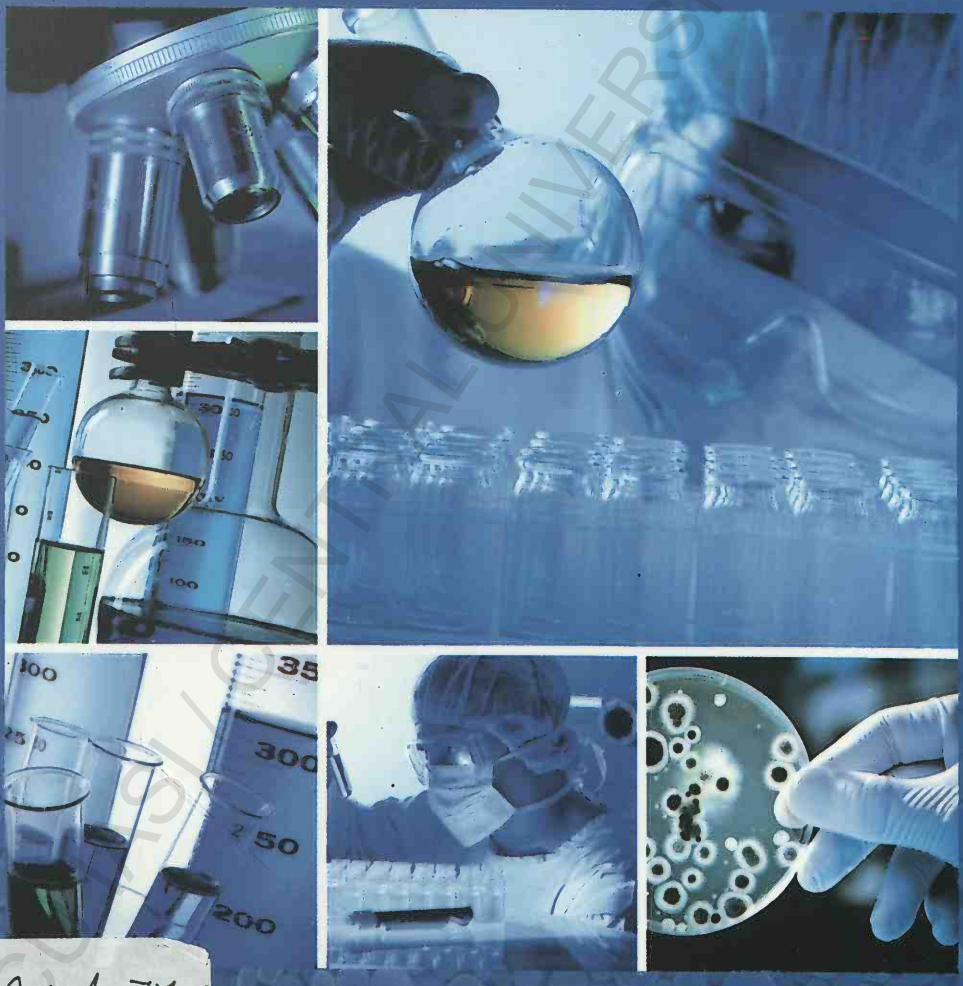
GABI DROCHIOIU • ROBERT VASILE GRĂDINARU
IOAN-MARIAN RÎŞCA • IONEL MANGALAGIU

TOXICOLOGIE

Aplicaţii în protecţia mediului, industrie, agricultură, biologie şi criminalistică



CIII-10.776

EDITURA UNIVERSITĂŢII „ALEXANDRU IOAN CUZA" IAŞI

CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Cm-10.776

Gabi Drochioiu, Robert Vasile Grădinaru
Ioan-Marian Rîşca, Ionel Mangalagiu

Toxicologie

Aplicaţii în protecţia mediului, industrie, agricultură, biologie şi criminalistică

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Acest volum reprezintă o parte din rezultatele cercetărilor efectuate în cadrul proiectului de parteneriat Biometac, Contract 32-173/2008, cu titlul *Membrane microbiologice şi polimeri sintetici biocompatibili cu potenţiale aplicaţii la îndepărtarea metalelor grele şi radioactive din mediu*. De asemenea, capitolul *Toxicologie medico-legală* şi cel destinat *canabinoidelor* s-au bazat pe experienţa acumulată în cadrul proiectului POSDRU/86/1.2/S/62307, cu titlul *Promovarea cercetării ştiinţifice din domeniul criminalisticii în activitatea judiciară*. O colaborare cu colegii de la Universitatea „Ştefan cel Mare" din Suceava, precum şi ajutorul colegilor din laboratorul de biochimie au făcut posibilă apariţia acestor rânduri.

Referenţi ştiinţifici:

Prof. univ. dr. Alexandru CECAL,
Universitatea „Alexandru Ioan Cuza" din Iaşi

Dr. abilitat Karin POPA,
Universitatea „Alexandru Ioan Cuza" din Iaşi

Redactor: Iulian MOGA
Coperta: Manuela OBOROCEANU
Tehnoredactor: Florentina CRUCERESCU

ISBN 978-973-703-888-3

© Editura Universităţii „Alexandru Ioan Cuza", 2013
700109 – Iaşi, str. Pinului, nr. 1A, tel./fax: (0232) 314947
http:// www.editura.uaic.roe-mail: editura@uaic.ro

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Gabi Drochioiu, Robert Vasile Grădinaru,
Ioan-Marian Rîşca, Ionel Mangalagiu

Toxicologie

Aplicaţii în protecţia mediului, industrie, agricultură, biologie şi criminalistică

666400
B.C.U. IASI

EDITURA UNIVERSITĂŢII „ALEXANDRU IOAN CUZA" IAŞI
2013

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Descrierea CIP a Bibliotecii Naţionale a României
Toxicologie: aplicaţi în protecţia mediului, industrie, agricultură, biologie şi criminalistică / Gabi Drochioiu, Robert Vasile Grădinaru, Ioan-Marian Rîşca, Ionel Mangalagiu. - Iaşi : Editura Universităţii „Al. I. Cuza", 2013

Bibliogr.
ISBN 978-973-703-888-3

I. Drochioiu, Gabi
II. Grădinaru, Robert V.
III. Rîşca, Ioan-Marian
IV. Mangalagiu, Ionel

615.9

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Cuprins

Cuvânt înainte 11

1. Elemente de toxicologie generală 13

Toxicologia ca ştiinţă de graniţă 13

Tipuri de substanţe toxice 19

Intoxicaţii 20

Ramurile toxicologiei 28

Toxicocinetica 29

Distribuţia, depozitarea şi acumularea 31

Biotransformarea (metabolizarea) substanţelor toxice 32

Eliminarea substanţelor toxice din corp 44

Bibliografie 47

2. Toxicologie generală. Toxicodinamia 49

Relaţia structură-activitate 49

Acţiunea substanţelor toxice la nivel de ţesut, organ, aparat, sistem 50

Acţiunea substanţelor toxice la nivel celular 53

Acţiunea substanţelor toxice la nivel molecular 56

Factori determinanţi ai toxicităţii 60

Combaterea efectelor toxice 70

Favorizarea eliminării substanţelor toxice absorbite 79

Bibliografie 80

3. Elemente de toxicologie industrială 81

Sistemul periodic şi toxicitatea 81

Compuşi chimici toxici 83

Elementele chimice toxice 83

Compuşi chimici toxici 114

Bibliografie 124

4. Toxicologia mediului şi agricultura 127

Poluanţii organici persistenţi 127

Pesticidele 129

Insecticide organofosforice 132

Alte tipuri de insecticide 137

Fungicide 138

Erbicide 139

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Zootoxine 141
Fitotoxine 141
Alte plante toxice 142
Micotoxine 146
Micotoxine produse de micromicete 152
Alcaloizii din cornul secarei 153
Alţi poluanţi ai mediului 158
Bibliografie 161

5. Alcoolii şi drogurile 163
Alcoolii 163
Alcoolul metilic, CH_3OH 164
Etanolul, CH_3CH_2OH 165
Etilenglicolul, $HO\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}OH$ 169
Alcaloizii 170
Toxicitatea alcaloizilor 172
Alcaloizii din cornul secarei 173
Nicotina 175
Structura chimică 176
Proprietăţi fizico-chimice 176
Etiologia intoxicaţiilor 177
Pătrundere, distribuţie, metabolizare, depozitare şi eliminare 177
Stricnina 180
Curara 181
Curarizante acetilcolinocompetitive 182
Curarizante acetilcolimimetice (depolarizante) 183
Proprietăţi fizico-chimice 184
Etiologia intoxicaţiilor 184
Pătrundere, distributie, metabolizare, depozitare şi eliminare 185
Simptomatologie 186
Tratament 186
Colchicina 187
Etiologia intoxicaţiilor 187
Pătrundere, distribuţie, metabolizare, depozitare şi eliminare 187
Simptomatologie 188
Morfina, codeina, tebaina şi derivaţii de semisinteză şi sinteză 188
Structura chimică 189
Produşii de semisinteză 189
Produşii de sinteză 190

BCU "CAROL I" CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Proprietăţile fizico-chimice ... 191
Etiologia intoxicaţiilor ... 192
Pătrundere, distribuţie, metabolizare, depozitare şi eliminare ... 192
Proprietăţile toxicologice. Mecanismul de acţiune ... 194
Derivaţii de semisinteză ... 196
Derivaţii de sinteză ... 197
Simptomatologie ... 200
Tratament ... 200
Izolare ... 201
Bibliografie ... 201

6. Toxicologia mediului. Substanţe cancerigene ... 203
Substanţe chimice, potenţial cancerigene pentru organismul uman ... 215
Inducerea tumorii ... 219
Activarea metabolică a substanţelor chimice ... 220
Agenţi alchilanţi ... 220
Activarea metabolică a aminelor şi a amidelor aromatice ... 221
2-Acetil-aminofluorenul (AAF) ... 221
Diverse amine aromatice ... 222
Donorii de grupe alchil ... 225
Activarea metabolică a aflatoxinelor ... 226
Activarea metabolică a hidrocarburilor aromatice policiclice ... 226
Schema generală a mecanismului cancerogenezei chimice ... 229
Bibliografie ... 231

7. Toxicologia medicamentelor ... 233
Parametrii farmacocinetici ai medicamentelor ... 234
Farmacotoxicologia ... 241
Medicamente analgezice-antipiretice, antiinflamatoare nesteroidiene ... 248
Medicamente derivate de la anilină ... 255
Derivaţi de pirazolonă şi pirazolidină ... 258
Antiepilepticele ... 263
Barbiturice ... 263
Hidantoine (2.4-dioxo-imidazolidine) ... 264
Anticonvulsivante ... 265
Derivaţi de iminostilben ... 266
Acizi carboxilici ramificaţi ... 266
Tranchilizante minore ... 272
Neurolepticele ... 277

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

8. Toxicologia medico-legală 285
Grupe de otrăvuri 287
Cercetarea criminalistică a otrăvirilor 288
Otrăvirea accidentală 289
Decese cauzate de abuzul de droguri 289
Dovezi circumstanţiale de otrăvire 290
Metode de analiză criminalistică a opioidelor 291
Metode preliminare utilizate la depistarea drogurilor în stradă 291
Metode folosite pentru fluidele biologice 292
Studii de caz şi prelevarea probelor 293
Interpretarea rezultatelor 294
Laboratoarele de medicină legală 296
Secţiuni tipice ale laboratorului criminalistic 297
Colectarea probelor 298
Tipuri de dovezi fizice 298
Metode de extracţie a substanţelor toxice 299
Izolarea opiaceelor din probele biologice 300
Determinarea concentraţiei otrăvurilor sau drogurilor 307
Exemple de analize 309
Bibliografie 310

9. Elemente de toxicologie analitică 311
Extracţia şi cromatografia în strat subţire 311
Cromatografia în strat subţire 315
Pretratamentul şi prepararea probelor 320
Aplicaţii ale cromatografiei în medicina judiciară 322
Probele biologice 325
Fluidele biologice 328
Probe neconvenţionale 330
Derivatizarea chimică în medicina judiciară 331
Determinări şi identificări diverse 332
Alţi alcaloizi 333
Alcaloizii din cornul secarei 337
Nicotina-aspecte analitice 337
Stricnina 339
Testul fiziologic 341
Identificarea stricninei în prezenţa brucinei 342
Curara şi curarizantele 343
Colchicina 343

BCU "VASILE ALECSANDRI" UNIVERSITY LIBRARY

Toxicologia analitică a unor medicamente 344
Fenazona şi aminofenazona 348
Fenitoina 349
Derivaţi carbamici 352
Benzodiazepinele 355
Determinare cantitativă 356
Fenotiazinele 357
Dozarea cu benzochinonă (tehnică Meunier) 359
Tioxantenele 359
Butirofenonele 360
Bibliografie 360

10. Canabinoide 361
Metabolizarea canabinoidelor 364
Canabinoide naturale: canabis, haşiş, marijuana, derivaţi 365
Canabinoide de sinteză din „Spice/Weed/ierburi" 366
Analiza GC-MS aplicată în cazul canabinoidelor 370
Canabinoide naturale: canabis, haşiş, marijuana, derivaţi 370
Canabinoide de sinteză din „Spice/Weed/ierburi" 377
Amfetamine şi derivaţi aminici 382
Metabolizarea amfetaminelor 384
Analiza GC-MS aplicată la amfetamine 385
Bibliografie 390

Index alfabetic, cărţi şi manuale de referinţă 391

B.C.U. „M. EMINESCU" IAŞI
CHIMIE

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Cuvânt înainte

Toxicologia, aplicaţii în protecţia mediului, industrie, agricultură, biologie şi criminalistică reprezintă o trecere în revistă a principalelor probleme din domeniul toxicologiei generale şi se adresează în primul rând studenţilor interesaţi să-şi croiască o carieră într-un domeniu care împleteşte armonios cunoştinţe şi deprinderi legate de chimia pură şi biologie cu ramurile lor aplicative (biologie celulară, chimie analitică, biologie moleculară, genetică aplicată etc.) şi cu elemente de chimie industrială, criminalistică, agronomie şi biologie agricolă etc. De fapt, despre ce domeniu este vorba? Este domeniul propriu de realizare profesională al fiecăruia. Astfel, un absolvent de chimie va fi tentat să devină un fin analist într-un laborator de criminalistică din cadrul poliţiei sau într-unul particular, pus la punct de el. Un biolog va fi interesat mai ales de metabolismul otrăvurilor în corp sau de utilizarea tehnicilor electroforetice, de pildă, pentru stabilirea paternităţii unui copil sau pentru depistarea unor infractori pe seama ADN-ului, dar va putea, de asemenea, coopera cu chimistul menţionat. Pe de altă parte, cunoştinţele cuprinse în acest îndrumar pot fi utile celui ce se angajează în protecţia mediului sau a consumatorului. Aşadar, indiferent de specializare, studenţii chimişti, biologi, criminalişti, agronomi, de la drept etc., vor avea de câştigat parcurgând şi, mai ales, meditând la şi aplicând principiile descrise în carte.

Deoarece se simte lipsa unei lucrări de acest fel în limba română, actualizată în ceea ce priveşte atât aspectele teoretice, cât şi cele aplicative, precum şi datorită accesului la literatura de specialitate, în special a celei de limbă engleză, autorii şi-au propus să realizeze o compilaţie între tradiţia moştenită de la autorii români toxicologi şi noutăţile în practica toxicologică internaţională. De aceea, capitolele vor cuprinde noţiunile generale de specialitate, cum ar fi cele referitoare la toxicocinetică, toxicodinamie, droguri, antidoturi etc., tratate pe larg, dar şi unele noutăţi preluate din articole ştiinţifice de ultimă oră. Acestea din urmă reprezintă mai degrabă exemple în cadrul general al expunerii, chiar dacă trebuie aprofundate şi investigate în continuare.

Conştienţi că nu respectăm canoanele scrierii unui manual care oferă o viziune de ansamblu şi o modalitate practică de aplicare a cunoştinţelor de toxicologie, dar nici pe cele moderne de însumare a experienţei unor specialişti competenţi, fiecare trecând exhaustiv în revistă, în capitole separate, cunoştinţele din domeniul său de strictă specialitate am adoptat o variantă intermediară. Astfel, lucrarea se bazează în primul rând pe lucrările apărute deja în limba

română ale unor autori recunoscuţi, menţionaţi în bibliografie, cărora le recunoaştem meritele de a fi prelucrat un vast material informativ, dar şi pe achiziţiile recente din domeniul toxicologiei, menţionate de asemenea în bibliografia inclusă la fiecare capitol. Şi cu autorii de carte străini am procedat la fel ca şi în cazul celor autohtoni preluând informaţiile relevente pentru poziţia lor de ansamblu şi menţionând lucrările la bibliografia generală. A rezultat o trecere în revistă asupra conceptelor şi a abordărilor sugerate de autorii citaţi.

De aceea, pentru o deplină cunoaştere a acestui domeniu incitant sugerăm consultarea lucrărilor originale citate aici, deoarece o singură carte, cum este aceasta, nu poate da decât informaţii generale asupra domeniului.

In acest context, lucrarea este perfectibilă, iar sugestiile şi criticile cititorilor sunt binevenite. Sperăm totuşi că acest volum va contribui într-o măsură semnificativă la clarificarea unor probleme şi va conduce paşii cititorilor către alte lucrări, mult mai bine realizate şi mai bogate în informaţie, pe diferite domenii de interes, cum ar fi toxicologia medico-legală, toxicologia medicamentelor, toxicologia industrială etc.

Finanţarea obţinută de la Guvernul României prin intermediul CNMP Bucureşti în cadrul unui proiect de parteneriat, cu acronimul Biometac (Contract 32-173/2008) a permis realizarea acestei lucrări. De asemenea, unele capitole, mai ales cele de toxicologie medico-legală au fost posibile datorită unui proiect de masterat în criminalistică (POSDRU/86/1.2/S/62307 intitulat „Promovarea cercetării ştiinţifice din domeniul criminalisticii în activitatea judiciară").

Mulţumim pentru sprijin referenţilor ştiinţifici, precum şi colegilor noştri, dr. Cătălina Ciobanu, dnei Olga Pintilie, doctoranzilor şi studenţilor care au ajutat la tehnoredactare. Suntem, de asemenea, recunoscători editurii şi colegilor implicaţi în editare în primul rând pentru răbdarea cu care au aşteptat manuscrisul care a fost sistematic îmbunătăţit în urma nenumăratelor discuţii între autori şi rescrieri a principalelor capitole. Apreciem munca tuturor celor care s-au implicat în efortul nostru. Trebuie subliniat că, fără scrierile şi experienţa unor toxicologi recunoscuţi, fie ei români sau străini, menţionaţi cu mulţumiri în bibliografie, de la care am împrumutat multe idei şi informaţii, această lucrare ar fi avut numai un caracter mult mai limitat.

Aşteptăm cu recunoştinţă criticile pertinente ale cititorilor şi sugestiile lor de îmbunătăţire a lucrării acesteia şi de realizare de noi lucrări cu tematică asemănătoare. Încercările noastre anterioare pe terenul toxicologiei au beneficiat de o astfel de atenţie din partea cititorilor şi, mulţumită lor, multe erori au fost eliminate în momentul redactării acestei introduceri în toxicologie. Sperăm, de asemenea, că studenţii noştri vor găsi lucrarea utilă informării lor în cadrul cursurilor sau pentru realizarea unor lucrări de licenţă şi de masterat.

Autorii

1. Elemente de toxicologie generală

Toxicologia ca ştiinţă de graniţă

Toxicologia studiază substanţele toxice şi anume originea, proprietăţile fizice, chimice şi biologice, precum şi izolarea, identificarea şi dozarea lor, alături de mecanismele lor de acţiune şi măsurile de combatere a acţiunilor nocive.

Toxicii pot fi de origine naturală sau sintetică şi pot fi produşi în organismul plantelor (alcaloizi, glicozizi), în corpul animalelor (ptomainele, veninurile) sau de către mucegaiuri (micotoxinele).

Cunoaşterea proprietăţilor substanţelor toxice este necesară pentru înţelegerea mecanismelor de acţiune toxică, mecanisme care conduc la leziuni biochimice sau la alterări histologice. De asemenea, proprietăţile substanţelor toxice sau toxicitatea oricărei substanţe permite stabilirea metodologiei de analiză (determinare chimică). De asemenea, izolarea, identificarea şi dozarea substanţelor toxice sunt necesare atât pentru supravegherea mediului (aer, apă, alimente), cât şi pentru stabilirea circuitului acestora în organism.

Combaterea nocivităţii substanţelor toxice presupune tratarea lor, precum şi elaborarea de măsuri profilactice şi stabilirea concentraţiilor maxime admisibile.

Istoric. În cursul evoluţiei sale în mediul său natural de viaţă, omul a cunoscut intuitiv sau prin observaţie proprietăţile toxice ale unor substanţe de origine minerală, vegetală sau animală. Aceste cunoştinţe au fost aplicate mai târziu la fabricarea săgeţilor otrăvite (curara), moment după care omul a început să ucidă animale. Totodată, omul a utilizat antidoturi împotriva otrăvurilor de origine vegetală şi animală (veninuri). Printre primele cărţi referitoare la antidoturi se cunosc *Theriaca* şi *Alexipharmaka*, scrise de Nicandru din Colofon

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

(sec. al II-lea î.Hr). Maimonide, filosof şi medic evreu, a scris în sec. al XII-lea, un *Tratat despre otrăvuri şi antidoturile lor*.

Din secolul al XVIII-lea datează primele lucrări despre otrăvuri cu scop medico-legal, precum *Asupra otrăvirilor cu arsen; cercetarea şi determinarea lui pentru justiţie*, elaborată de Hahnemann în 1786 şi Proprietăţile otrăvurilor, un capitol din primul tratat de medicină judiciară scris de François-Emmanuel Fodéré (1798). Bazele toxicologiei ca ştiinţă au fost puse de Orfila (1787-1853) prin tratatul său *Toxicologia generală* (1814).

Importante contribuţii la dezvoltarea toxicologiei au fost realizate de Marsh care în 1836 a elaborat o tehnică pentru decelarea arsenului şi Orfila care a arătat că toxicul trebuie căutat în diferite ţesuturi şi organe. Înainte de acesta (1839), cercetările vizau numai analiza unor probe din stomac, intestine şi vomismente.

În secolul al XIX-lea, cercetările au fost dezvoltate în direcţia distrugerii materiei organice, izolării şi identificării substanţelor toxice din produsele biologice. S-au remarcat în aceste cercetări, Fresenius, Babo, Stokes, Stas, Otto, Dragendorff, Tardieu, Roussin, Ogier etc. În secolul trecut, Kohn-Abrest, Fabre, Truhaut, Boudène, Jaulmes, Le Moan, Stepanov, Şvaicova, Clarke, Curry, Sunshine, Müller, Heindrycks, Ştefan Minovici, Ioanid, Galea şi alţii au elaborat metode valoroase de toxicologie analitică. Aceştia au descoperit şi cercetat compuşi de importanţă toxicologică: Sertürner a descoperit morfina (în 1805), Pelletier şi Caventou (mai mulţi alcaloizi, 1817-1820), Selmi şi Gauthier (ptomaine, 1870-1872), Ogier (glicozizi cadaverici, 1891) etc. Mai târziu, în secolul al XX-lea, s-a dezvoltat biologia moleculară care şi-a pus amprenta şi asupra studiilor de toxicologie. În 1948, Druckrey, cercetând dimetilaminoazobenzenul, a descoperit că există un efect toxic independent de doză, cu alte cuvinte unii compuşi nu prezintă doză minimă nenocivă. După 1960 s-a stabilit că nocivitatea se poate manifesta, în unele cazuri, la descendenţi, chiar dacă nu se evidenţiază la organismul-receptor (Cotrău, 1993).

Începând cu anul 1958, când Eugen Macovschi a demonstrat existenţa biostructurii, purtătoarea însuşirilor viului, se pune cu totul altfel problema interacţiunii toxic-organism viu (Macovschi, 1969; 1979). Astfel, substanţa toxică poate acţiona atât asupra materiei moleculare incluse în biostructură şi care coexistă cu aceasta, cât şi direct asupra biostructurii pe care o destramă

BCU MF CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

parţial sau total provocând procese morbide reversibile ori ireversibile (Drochioiu *et al.*, 2004; Drochioiu, 2006; 2008). Moartea organismului are loc, potrivit acestei concepţii, în trepte, iar mecanismul acţiunii toxicului implică în mai mare măsură intervenţia organismului vătămat. De pildă, cercetările realizate cu azidă de sodiu şi dinitrofenol au arătat că organismele tratate cu aceste substanţe reacţionează la acţiunea substanţelor toxice prin eliberarea unei părţi din apa inclusă în biostructură, precum şi a unora dintre componenţii moleculari ai acesteia.

Primul toxicolog român este considerat farmacistul şi medicul C. Hepites care a înfiinţat, în anul 1833, un laborator de analize chimico-legale la Brăila. După 1890, toxicologia a fost reprezentată de Mina Minovici, farmacist şi medic, întemeietorul Institutului de Medicină Legală din Bucureşti. Fratele său, Ştefan Minovici, deşi chimist, a reorganizat învăţământul farmaceutic şi a întemeiat Facultatea de Farmacie din Bucureşti (1923); acesta a elaborat, printre altele şi un manual de toxicologie (1912). Între colaboratorii şi urmaşii săi pot fi amintiţi Bacovescu, Vintilescu, Deleanu, Ionescu-Matiu. În Transilvania, medicul, chimistul şi farmacistul J. Orient a publicat numeroase lucrări de toxicologie. La Bucureşti, N.I. Ioanid a publicat în 1965 un manual de referinţă în domeniu intitulat Toxicologie, în timp ce la Cluj a activat prof. V. Galea, autor a numeroase lucrări de toxicologie teoretică şi practică.

Noţiunea de *toxic* sau de substanţă toxică derivă din grecescul *toxikon* (otravă), care, după Dioscoride (sec. I d.Hr.) derivă de la *toxon* (arc) şi se referă la săgeţile otrăvite. In toxicologie, prin toxic se poate înţelege şi un complex de substanţe cu efect otrăvitor. Se mai afirmă că *toxikon* provine de la egipteanul *tako* (distrugere, moarte). După Pliniu cel Bătrân (sec. I d.Hr.), termenul *toxicus* derivă de la *taxus*, o specie de conifer ale cărui fructe erau folosite la înveninarea săgeţilor şi despre care se ştie astăzi că îşi datoresc toxicitatea alcaloidului numit taxină. Cuvântul „otravă" provine de la verbul slav „отравить" (pronunţie: otravíti, traducere: a nenoroci, nenorocire, a mâhni, a tulbura sănătatea sufletească). Termenul de otravă se referă numai la substanţa toxică sau toxicul folosit în scop criminal. De asemenea, există noţiunea de venin, derivat de la *venenum* (otravă). În mod normal, prin venin se înţelege curent toxina elaborată de unele specii de animale. Noţiunea de *toxină* se referă la substanţele organice produse de organismele animale sau vegetale, capabile să genereze intoxicaţii. În

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

cadrul toxicologiei intră numai micotoxinele, nu şi toxinele bacteriene şi helmintice.

Prin *toxic*, Claudius Galenus din Pergam (sec. al II-lea d.Hr.) înţelegea *orice lucru care poate altera organismul nostru*. În secolul al VIII-lea Jabir ibn Hayyan (Geber) ar fi arătat că otrăvurile îşi manifestă acţiunea nu numai prin natura lor, ci şi prin *locul şi timpul utilizării, forma otrăvii sau caracteristicile individuale ale omului*. Paracelsus (1493-1541) introduce noţiunea de doză: *Toate lucrurile sunt otravă şi nimic altceva decât otravă; doar doza face un lucru să nu fie otravă*. În edictul dat în 1682 de Ludovic al XIV-lea, referitor la „afacerea otrăvurilor", se arăta că: *Tot ceea ce provoacă o moarte rapidă sau afectează un timp sănătatea omului, indiferent dacă este vorba de un corp simplu sau compus, trebuie privit ca o otravă adevărată*.

Jules Ogier (1853-1913) afirma că otrava este *orice substanţă a cărei prezenţă în organism nu este nici normală, nici obişnuită*. René Fabre şi René Truhaut (1960) considerau că: *toxic este substanţa care, după pătrunderea în organism în doză relativ ridicată (unică sau repetată la intervale scurte) sau în doze mici (repetate timp îndelungat) determină, imediat sau după o perioadă de latenţă, în mod trecător sau persistent, alterarea uneia sau mai multor funcţii ale organismului, putând duce la moarte*. Multe dintre medicamentele utilizate în prezent au într-adevăr un potenţial toxic.

Asemănarea dintre toxic şi medicament a fost observată încă din Antichitate. Grecii foloseau termenul de *pharmakon* atât cu sensul de medicament, cât şi de otravă.

Noi concepţii în biologie. Într-o viziune structural-fenomenologică (Drăgănescu, 1990), fiinţele vii pot fi considerate ca fenomene care se manifestă pe structuri materiale şi, de aceea, ele cuprind mai mult decât un singur nivel de organizare (structurare), cel molecular. Plantele manifestă un nivel de organizare biostructural care, împreună cu nivelul molecular coexistent, formează materia biosică (Macovschi, 1968, 1972). Nivelul de organizare biostructural conferă plantelor şi vieţuitoarelor în general însuşirea de viu. Animalele mai prezintă şi un al treilea nivel de structurare, cel psihostructural, suportul pe care se manifestă în lumea înconjurătoare emoţiile, sentimentele şi trăirile specifice atât animalelor cât şi omului (Papacostea, 1979). Omul este posesorul unui al patrulea nivel, cel noesistructural, caracteristic autoconştienţei şi gândirii

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

abstracte (Macovschi, 1979). Aceste niveluri se află într-o anumită armonie între ele într-un corp sănătos, indiferent dacă acesta este o plantă, un animal sau un om, fiind interconectate prin intermediul a două categorii majore de relaţii şi anume o categorie ascendentă (de la nivelul molecular la cel noesic) de determinare şi una descendentă de coordonare (Rîşca şi Ştiucă, 2008). Perturbarea echilibrului dintre nivelurile de structurare specifice lumii înconjurătoare poate conduce la starea de boală, iar în cazul intoxicaţiilor, perturbarea echilibrului dintre aceste niveluri de organizare poate fi provocată de o substanţă străină corpului. Alte substanţe permit reechilibrarea organismului viu. Atât medicamentele, cât şi substanţele toxice sunt capabile să modifice acest echilibru. Deplasarea echilibrului, care se poate face într-un sens sau în altul, poate determina fie vindecarea unei boli, fie o stare toxică sau chiar moartea organismului în cauză. Substanţele proprii corpului, în general nu afectează acest echilibru, iar alimentele, în doze normale, sunt transformate în substanţe proprii fără efecte toxice.

În cadrul biologiei moleculare actuale se studiază numai acţiunea substanţelor toxice la nivel molecular, la fel cum se studiază substanţele chimice din natură fără a le raporta la legăturile acestora cu mediul înconjurător. Toxicii induc însă efecte, prin relaţia de determinare, şi asupra structurilor supramoleculare şi a nivelurilor de organizare ale materiei vii superioare celui molecular. Structura energetică a corpului viu poate fi afectată prin simpla prezenţă a unei substanţe, aşa cum, de pildă, este afectat un aparat electronic atunci când introducem obiecte metalice în acesta; nu contează compoziţia şi reacţia chimică a componentelor sale cu circuitele electrice, ci doar modificarea configuraţiei circuitelor.

Substanţele străine corpului prezintă structuri şi proprietăţi diferite, cu efect perturbator asupra echilibrului existent în organismul viu. Prin efortul propriu, organismul transformă aceste substanţe în substanţe proprii corpului şi le integrează în biostructura sa. Pentru a le degrada şi a le transforma în substanţe proprii au loc reacţii care restabilesc armonia dintre structurile constitutive ale corpului. Dacă acest lucru se realizează, are loc vindecarea. Dar, pentru a le degrada, organismul trebuie să le cunoască, să şi le „însuşească". Din această cauză toate substanţele, chiar şi cele alimentare obişnuite, luate în

BCU CLUJ / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

cantitate prea mare devin toxice, deoarece organismul nu mai este capabil să le digere, să le transforme.

Pentru degradarea şi asimilarea produşilor rezultaţi, corpul face un efort care-l fortifică asemenea întăririi muşchilor ca urmare al unui efort gradat şi continuu. Dacă solicitările depăşesc posibilităţile organismului, acesta, dimpotrivă, slăbeşte. Aceste substanţe se comportă atunci ca toxici.

Atunci când substanţele chimice toxice ajung în corp, acestea pot fi degradate mai uşor sau mai greu, în funcţie de asemănările lor structurale cu substanţele naturale cunoscute. Corpul nu se poate debarasa de anumite substanţe organice, şi acestea se depozitează, precum DDT în grăsimi, cu afectarea funcţiilor specifice organismului. Apar astfel structuri străine în corp care-l perturbă structural (Bott, 1976).

Tradiţie şi modernitate în toxicologie. O concepţie interesantă întâlnim şi la arabi: *Tot ceea ce se absoarbe* – scrie Al-Biruni (973-1048) în *Cartea drogurilor – se împarte în alimente şi otrăvuri, iar între cele două categorii se situează medicamentele... ele sunt vătămătoare în comparaţie cu alimentele şi curative în comparaţie cu otrăvurile, iar acţiunea lor curativă se manifestă numai atunci când sunt utilizate de un medic priceput şi scrupulos. De aceea, între ele şi alimente există aşa-numitele alimente medicamentoase, iar între ele şi otrăvuri, aşa-numitele medicamente toxice.* Relaţia medicament-otravă este definită succint de Gerolamo Mercuriali (1530-1606): *otrava este un medicament mortal.*

După o concepţie cibernetică, organismele vii sunt într-o stare de echilibru cu mediul înconjurător, trecând la rândul lor, pe parcursul întregii vieţi, printr-o multitudine de stări staţionare ireversibile de mare complexitate (Prigogine şi Stengers, 1984). Organismul viu reprezintă o entitate de sine stătătoare, relativ independentă faţă de mediul extern care prezintă procese coordonate pentru a-şi conserva identitatea, structura proprie şi funcţiile specifice. De aceea, o substanţă străină corpului intervine în echilibrul organismului în mod pasiv, provocând reacţia acestuia, sau activ prin reacţia sa cu componentele moleculare ale acestuia.

Distingem astfel: a) substanţe benefice echilibrului organismului, cum ar fi apa pură, aminoacizii esenţiali, unele vitamine etc.; b) substanţe şi produse utilizate ca alimente, care au un caracter relativ nociv numai în cantitate mare; c)

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

medicamente, care în doze ponderale readuc la normal echilibrul perturbat. Între acestea se află şi remediile homeopatice care reprezintă soluţii cu concentraţii infinitezimale, unele chiar dincolo de limitele numărului lui Avogadro, capabile să ofere corpului bolnav informaţia de care are nevoie pentru autoechilibrare; d) substanţe toxice şi factori care au tendinţa de a rupe echilibrul dintre individ (sau descendenţa sa) şi mediul înconjurător aceştia putând avea o natură fizică, chimică sau chiar psihică.

Toxicul îşi poate manifesta acţiunea în mod direct prin reacţia sa cu unele componente ale corpului (de exemplu cianurile reacţionează cu ionii Fe^{3+} din citocromoxidaza pe care o inactivează) sau indirect, prin produşii săi de degradare (formaldehida şi acidul formic proveniţi din metanol sunt, la rândul lor, toxici).

De asemenea, unii toxici cu acţiune lentă, cum ar fi substanţele cancerigene, *solicită* organismul până la epuizare energetică, într-un proces de îndepărtare a acestora sau a produselor lor de degradare. În acest caz, toxicii se manifestă pasiv, iar organismul uman sau animal acţionează nespecific asupra lor, în timp ce aceştia perturbă funcţiile organelor şi ţesuturilor prin interacţiunea lor sau a produşilor de degradare şi asocierea lor cu moleculele existente în organism (Drochioiu, 1987).

Tipuri de substanţe toxice

Substanţele toxice pot fi clasificate după următoarele criterii:

- *Origine*: toxici minerali, vegetali, animali sau sintetici;
- *Constituţie chimică:* toxici anorganici, organici etc;
- *Comportare analitică*: toxici gazoşi, volatili, minerali, organici nevolatili, acizi, baze, oxidanţi etc;
- *Comportare fiziopatologică*: toxici cu acţiune asupra sistemului nervos central, sistemului nervos vegetativ, aparatului respirator, sistemului cardiovascular, sângelui şi organelor hematopoietice;
- *Domeniu de utilizare şi provenienţă*: toxici industriali, medicamente, plante toxice, pesticide, detergenţi, materiale plastice, aditivi alimentari, toxine (zoo- şi fitotoxine), substanţe toxice de luptă etc.

BCU "ASTRA" CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Intoxicaţii

Intoxicaţia este un răspuns al organismului faţă de agresiunea toxică şi depinde în primul rând de o proprietate caracteristică a substanţei – toxicitatea.

Intoxicaţia reprezintă ansamblul de semne şi simptome – constituind o stare patologică – care se instalează după pătrunderea unui toxic în organism. Ca urmare se produce dereglarea, alterarea sau chiar abolirea unor funcţii vitale, uneori acţiunea unei astfel de substanţe putând provoca decesul. Hans Selye (1984) constată în cazul *tuturor agresiunilor*, inclusiv a intoxicaţiilor, o reacţie stereotipă din partea organismului afectat. A numit-o *sindrom general de adaptare*, deoarece aceasta permite corpului să răspundă activ factorilor din mediul extern. Sindromul general de adaptare cuprinde mai multe faze, şi anume: o fază de alarmă, o fază de adaptare şi, în fine, una de epuizare, în care caz sistemele de protecţie ale corpului sunt depăşite. În oricare din aceste etape de răspuns la agresiunea toxicului, în funcţie de intensitatea acestuia, animalul sau omul pot muri. Toxicii cu acţiune moderată, dar de lungă durată determină o a patra fază a sindromului general de adaptare: faza canceroasă. Caracteristica acesteia o reprezintă durata foarte lungă de acţiune a agentului de stres, care poate fi o substanţă chimică, un material inert sau un agent biologic, virus sau bacterie. Pe de altă parte, intensitatea agentului cancerigen este moderată dar continuă, o intensitate prea înaltă putând conduce la deces înainte de cancerizare.

În raport cu *originea* factorilor care determină intoxicaţiile, acestea se clasifică în:

Intoxicaţii endogene, provocate de substanţe nocive eliberate în diferite stări patologice de către microorganisme, paraziţi etc.; ele interesează patologia medicală. Se mai pot aminti aici produşii de fermentaţie din intestinul gros, produşii de degradare ale alimentelor şi care sunt în mod normal detoxicate la nivelul ficatului.

Intoxicaţii exogene, provocatede toxicii pătrunşi în organism pe diferite căi; acestea fac obiectul toxicologiei.

În cadrul intoxicaţiilor exogene se disting:

- *intoxicaţiile intenţionate* (voluntare): crime, sinucideri, toxicomanii;
- *intoxicaţiile accidentale*: accidentele propriu-zise, medicamentoase, profesionale, alimentare.

Crimele prin otrăvire (în continuă scădere), utilizează pesticide organofosforice, digitalice, taliu etc.

Sinuciderile prin otrăvire, în număr din ce în ce mai mare, se realizează prin ingerarea de medicamente (opiacee, psihotrope), pesticide, oxid de carbon, gaze naturale, alcaloizi, sodă caustică, mercur etc.

Toxicomania (gr. *toxikon* = otravă + *mania* = nebunie) este starea de intoxicaţie, periodică sau cronică, determinată de consumarea repetată a unui drog, natural sau sintetic. Caracteristicile sale sunt dorinţa de neînvins sau necesitatea de a continua consumarea drogului şi de a-l procura cu orice preţ; tendinţa de a mări progresiv dozele, dependenţa de ordin psihic şi, în general, dependenţa fizică faţă de efectele drogului, cu apariţia sindromului de abstinenţă la suprimarea lui, efecte nocive asupra individului, familiei şi societăţii.

Intoxicaţia presupune existenţa a trei faze: faza de expunere, faza toxicocinetică şi faza toxicodinamică. După pătrunderea toxicului în mediul intern au loc următoarele procese:

- acţiunea organismului asupra toxicului, ce corespunde *fazei toxicocinetice* şi care cuprinde absorbţia, distribuţia, depozitarea (eventual acumularea), biotransformarea şi eliminarea toxicului sau a metaboliţilor săi;
- acţiunea toxicului asupra organismului, corespunzătoare *fazei toxicodinamice* cuprinde ansamblul fenomenelor care au loc în organism la diferite niveluri, conducând, în final, la efectul toxic (Fig. 1).

Intoxicaţiile accidentale propriu-zise se datorează neatenţiei, neştiinţei sau imprudenţei şi sunt legate de păstrarea şi folosirea improprie a pesticidelor, medicamentelor, a substanţelor chimice de uz casnic (sodă caustică, detergenţi, produse petroliere etc.), de defecţiuni de tiraj ale sobelor (gaze naturale, cărbune), de gazele de eşapament ale automobilelor (în garaje).

Intoxicaţiile medicamentoase au loc prin:

- *eroarea medicului*, prin prescrierea unor cantităţi de substanţă activăcare depăşeşte dozele maxime terapeutice, a medicamentelor conţinând un principiu activ comun (efect cumulativ) sau sediu comun de acţiune (efect sinergic), a principiilor active care, prin asociere, conduc la efecte toxice sau la potenţare exagerată etc.
- *eroarea farmacistului*, prin nedescifrarea corectă a reţetei, nesemnalării erorii din reţetă, confuzie de substanţe, eliberarea unui preparat neomogen etc.

- *eroarea bolnavului* prin supradozare, automedicaţie, polipragmazie, confuzie de medicament sau de cale de administrare etc.

- *caracteristici ale bolnavului*: hipersensibilitate, deficienţe în detoxifiere sau eliminare.

- *reacţii adverse* ale medicamentului.

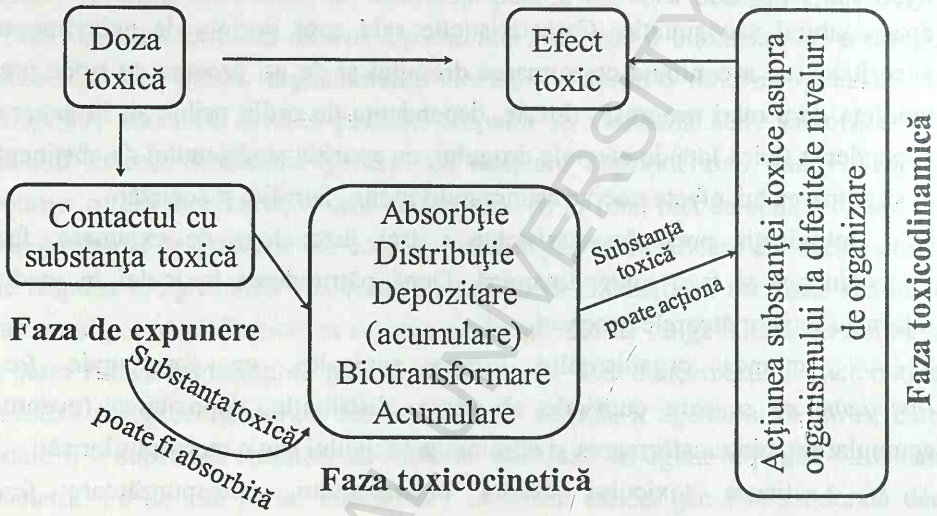


Figura 1. Etapele (fazele) actiunii substanţelor toxice asupra organismelor vii (după Cotrău, 1993, schemă modificată).

Intoxicaţiile profesionale au loc în industria chimică, extractivă, agricultură, ateliere meşteşugăreşti etc. Aceste intoxicaţii sunt produse de compuşii unor metale şi nemetale, pesticide, solvenţi organici, compuşi cancerigeni etc.

Intoxicaţiile alimentare se produc prin ingerarea – din ignoranţă, imprudenţă, confuzie – a ciupercilor otrăvitoare, a plantelor cianogenetice, a cerealelor parazitate sau toxice, a peştilor otrăvitori, a produselor alterate, a contaminanţilor precum metalele toxice, pesticidele, detergenţii, îngrăşămintelor azotate, substanţelor cancerigene, substanţelor din ambalaje, a aditivilor alimentari etc.

BCU IASI CITIM UNIVERSITY LIBRARY

În funcţie de *timpul instalării intoxicaţiei* se cunosc:

- *intoxicaţia acută*, toxicul fiind absorbit în doză relativ mare şi unică sau în doze mai mici şi repetate la intervale scurte, iar manifestările toxice apar pe neaşteptate, sunt violente şi pot fi urmate de moarte. După timpul de apariţie şi violenţa manifestărilor toxice, se disting: intoxicaţia supraacută, acută şi subacută;

- *intoxicaţia cronică*, numită şi „intoxicaţia pe termen lung" reprezintă totalitatea efectelor toxice produse prin administrarea repetată a unui toxic în aceeaşi doză, pe o perioadă corespunzătoare, de obicei, la cea mai mare parte din viaţa speciilor care trăiesc puţin sau la viaţa lor întreagă sau, în cazul în care se urmăresc efecte mutagene, teratogene sau cancerigene, la mai multe generaţii. Leziunile biochimice şi morfofuncţionale apar lent, dar continuu.

Intoxicaţia pe termen lung, prin absorbţie repetată de doze mici, are loc în cazul substanţelor toxice cumulative (metanol, digitalice, metale grele, fluor, derivaţi de arsen etc.) prin cumularea dozelor sau prin cumularea efectelor, în cazul substanţelor cancerigene.

Intoxicaţia pe termen lung poate fi cauzată de o doză unică. Toxicitatea în formă agravată se manifestă, de pildă şi la câteva săptămâni după ingerarea unei doze unice de Paraquat. La fel se comportă unele insecticide organofosforice cu acţiune neurotropă întârziată, nitrozaminele cancerigene etc.

Intoxicaţia acută reprezintă totalitatea efectelor toxice produse prin administrarea unei substanţe toxice, numită şi toxic, numit într-o singură doză, putând provoca moartea a 50% din animalele dintr-un lot în decurs de 24-48 ore (sau până la 15 zile pentru toxicii cu efect întârziat).

Intoxicaţia subacută se exprimă prin totalitatea efectelor toxice produse prin administrarea repetată a unui toxic în aceeaşi doză, pe o perioadă egală cu 1/10 din durata medie de viaţă a speciei.

Doza reprezintă cantitatea din substanţă care, introdusă în organism, provoacă un efect terapeutic determinat. La medicamente se disting doze terapeutice, toxice şi letale. Modul de exprimare a dozei variază: doză/kg masă corporală; doză/masă corporală globală; doză/unitate de suprafaţă corporală; concentraţie molară; unitate biologică etc. Pentru substanţele care au pătruns în organism pe cale orală se face distincţie între doza ingerată şi doza absorbită.

BCU "CAROL I" CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Doza toxică se referă la cantitatea de substanţă capabilă să determine efecte toxice.

Doza letală (DL) exprimă toxicitatea acută a substanţelor care pătrund oral sau parenteral. Se exprimă în mg/kgcorp şi se stabileşte experimental pe loturi de animale. DL este urmat de un indice – de la 1 la 100 – exprimând procentul de letalitate într-un timp dat. DL_5 (DLM) este doza letală minimă, DL_{50} (DML), doza medie letală, DL_{75} este doza fatală, iar DL_{100}, doza maximă letală sau doza letală absolută. DL_o, doza maximă tolerată (când se produc efecte toxice, dar nu letale) nu este o doză letală.

În mod curent, pentru exprimarea toxicităţii acute a unei substanţe se foloseşte categoria DL_{50} (mg/kg corp), deoarece la această doză diferenţele de reactivitate individuală sunt mai reduse. În raport cu DL_{50} se clasifică şi se compară substanţele toxice (Tabelul 1).

Aprecierea toxicităţii acute pe bază valorii DL_{50} prezintă dezavantajul că nu ia în calcul masa moleculară, deoarece contează numărul de molecule implicate în mecanismele fiziopatologice. S-a introdus, de aceea, noţiunea de *potenţial de toxicitate*, pT = – lg [T]. Valoarea T se calculează după valoarea DL_{50} i.p. (intraperitonial) la şoareci şi reprezintă concentraţia molară toxică a substanţei, exprimată în moli/kg corp.

Concentraţia letală în atmosferă (CL) exprimă toxicitatea acută a substanţelor care pătrund pe cale respiratorie şi are aceeaşi semnificaţie ca şi DL. Exprimarea sa se face astfel:

- masa/volum (g/v);
- volum/volum (v/v), ca procente de volum (% vol.), părţi/milion (ppm), părţi pe bilion (ppb; 1 ppm = 1000 ppb).

Concentraţiile maxime admise (CMA) sunt caracteristice fiecărei substanţe din mediul industrial sau comunal, pentru a evita apariţia manifestărilor toxice. Ele reprezintă concentraţiile medii ale substanţelor din aer, care, cu excepţia cazurilor de hipersensibilitate, nu provoacă la nici unul dintre muncitorii expuşi în mod continuu nici un semn sau simptom de boală sau de condiţie fizică rea, putând fi puse în evidenţă prin cele mai sensibile teste acceptate pe scară internaţională.

În raport cu *natura efectului toxic*, substanţele se împart în mai multe grupe, mai importante fiind următoarele două:

- substanţe ale căror efecte principale se traduc prin fenomene de iritaţie, sensibilizare sau intoxicaţie acută, apărute imediat sau după o fază de latenţă, în urma unei expuneri de scurtă durată la concentraţii curente (oxizi de azot, formaldehidă, halogeni, mercaptani etc.). În acest caz CMA sunt denumite *valori plafon*, care nu trebuie depăşite nici chiar timp de 10-15 minute;
- substanţe ale căror efecte principale se datorează cumulării lor, în urma expunerii repetate la concentraţii curente (metale grele, solvenţi organici etc.). În acest caz, trebuie considerate drept CMA valorile medii integrate în raport cu timpul, corespunzând noţiunii de *praguri* care nu pot fi depăşite. Ca urmare, aceste concentraţii pot fi depăşite în timp şi spaţiu, însă este obligatoriu ca, însumate, să se compenseze şi astfel să nu depăşească CMA. De pildă, pentru plumb, expunerea timp de o oră la concentraţii de opt ori mai mari decât concentraţia medie admisă nu prezintă risc de intoxicaţie dacă în celelalte şapte ore de muncă plumbul este absent; dimpotrivă, pentru solvenţii liposolubili cu acţiune narcotică (dicloretan, CS_2 etc.), valoarea medie admisă nu poate fi decât foarte puţin depăşită, pe o perioadă extrem de scurtă.

Pentru amestecul de toxici există două modalităţi de exprimare a CMA, în raport cu modul de dozare:

- dacă toxicii se dozează global, CMA se exprimă în toxicul cel mai agresiv. De exemplu, la amestecul de HCl, H_2SO_4 şi HNO_3, rezultatul se exprimă în mg H_2SO_4/m^3 de aer (CMA = 1,5 mg/m^3) faţă de ceilalţi doi (CMA = 10 mg/m^3).
- dacă toxicii se dozează individual, CMA se consideră global depăşită chiar atunci când concentraţiile individuale (C_1, C_2, C_3...) sunt mai mici decât CMA respective (CMA_1, CMA_2, CMA_3...), însă suma rapoartelor este egală sau mai mare decât unitatea:

$$C_1/CMA_1 + C_2/CMA_2 + ...+ C_n/CMA_n \geq 1$$

De exemplu, la un amestec de acetonă, alcool izopropilic, cloroform şi alcool amilic, CMA globală este depăşită de 1,5 ori, deşi concentraţiile fiecărui toxic în parte sunt inferioare CMA respective:

BUAS CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

$$300/1500 + 240/600 + 80/200 + 125/250 = 1,5 > 1$$

Când suma rapoartelor este inferioară unității, nu există efect aditiv.

Se consideră că au efect sinergic de tip aditiv substanțele toxice care au ca țintă a agresivității lor același organ sau sistem al organismului ori care au același mecanism de acțiune. În astfel de locuri de muncă aprecierea riscului, respectiv a nivelului noxelor din aer în raport cu concentrațiile admisibile, se va face aplicând următoarea formulă:

$$C_1/CMA_1 + C_2/CMA_2 + \ldots + C_n/CMA_n < 1$$

(C_1, C_2, C_n = concentrațiile determinate în aer pentru fiecare noxă)
(CMA_1, CMA_2, CMA_n = concentrațiile maxime admise pentru noxele respective).

În România, normele de protecția muncii stabilesc următoarele:

- concentrația maximă admisă este concentrația noxelor din zona de muncă ce nu trebuie depășită în nici un moment al zilei;
- concentrația medie este concentrația noxelor rezultată dintr-un număr de determinări reprezentative pentru locul de muncă ales, care nu trebuie depășită pe durata unui schimb de lucru;
- în cazul medicamentelor se determină *indicele terapeutic* (IT) sau *factorul relativ de securitate*, prin raportarea *dozei letale* (DL_{50}) la *doza medie eficace* (DE_{50}) (cantitatea de substanță capabilă să determine un efect terapeutic la 50% dintre subiecții folosiți în experiment). Dacă IT ≥ 10, utilizarea substanței în terapeutică nu prezintă pericol la doze uzuale; pentru IT < 10 securitatea tratamentului este scăzută.

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Tabelul 1. Scara toxicităţii (după Hodge şi Steaner, 1956).

Grupa de toxicitate	Gradul de toxicitate	Calea de administrare			Doza letală probabilă la om (g)	Substanţe în grupă
		DL_{50} cutanat iepuri, mg/kg	DL_{50} (doză unică) oral şobolan, mg/kg	Inhalare de vapori (4 ore) mortalitate 30-60% (şobolan) ppm		
1	Extrem de toxic	<5	<1	<10	<0,065	Alcaloizi
2	Foarte toxic	5-43	1-50	10-100	4	Organofosforice, organomercurice, As_2O_3, DNOC
3	Moderat toxic	44-340	50-500	100-1000	31	Metale grele
4	Slab toxic	350-2810	500-5000	1000-10000	570	Aditivi alimentari, Fe, Ni
5	Practic netoxice	2820-22590	5000-15000	10000-100000	1100	Arome alimentare, NaCl, acizi organici
6	Relativ fără toxicitate	>22600	>15000	>100000	>1100	Substanţe alimentare

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Ramurile toxicologiei

Toxicologia cuprinde numeroase ramuri în funcţie de domeniul său de aplicabilitate. De pildă, toxicologia chimico-legală (judiciară) are drept obiect de activitate punerea în evidenţă a substanţelor toxice şi a metaboliţilor lor în organe, lichide biologice, corpuri delicte. Are rolul de a dovedi crimele prin otrăvire, stabilirea sinuciderilor şi, mai recent, urmăreşte activitatea laboratoarelor clandestine de sinteză a unor droguri.

Toxicologia clinică urmăreşte stabilirea diagnosticului corect şi a tratamentului eficient în intoxicaţiile acute, ca şi măsurile de prim ajutor în caz de accidente, sinucideri etc.

Toxicologia medicamentelor are ca sarcini verificarea preclinică a securităţii noilor medicamente în condiţii de supradozare, ca şi verificarea, prin experiment, a reacţiilor adverse depistate la om, pentru medicamentele aflate deja în uz.

Toxicologia metabolică (xenologia) studiază procesele fiziologice şi biochimice de transformare a xenobioticelor (substanţe străine organismului) înainte de apariţia leziunilor. Prin stabilirea etapelor şi sediilor de metabolizare, toxicologia metabolică permite prevenirea intoxicaţiilor şi tratamentul lor eficient, mărind astfel aportul toxicologiei la medicină.

Toxicologia industrială are ca obiect de cercetare efectul nociv al substanţelor toxice din mediul industrial, stabileşte concentraţiile maxime admise şi măsurile de profilaxie a intoxicaţiilor. Sarcina toxicologiei industriale de a urmări intoxicaţiile profesionale cunoscute este completată cu studiul produşilor noi, cu potenţial toxic, depistarea zonelor cu încărcătură toxică şi stabilirea metodelor eficiente de detecţie şi profilaxie.

Toxicologia poluanţilor atmosferici are în vedere efectul nociv al acestor poluanţi, le stabileşte limitele de toleranţă şi măsurile de combatere.

Ecotoxicologia studiază efectele nocive ale poluanţilor chimici asupra ecosistemelor vegetale şi animale, terestre şi acvatice. Totodată, studiază trecerea substanţelor toxice de-a lungul lanţurilor alimentare cu posibilitatea de acumulare la anumite niveluri ale acestora, cu potenţial pericol pentru om. Adesea substanţa toxică este absorbită de o plantă sau un animal, în organismul cărora se concentrează fără a le provoca tulburări vizibile, datorită rezistenţei lor specifice. Dacă toxicul trece în organismul unui animal sau al omului, aceştia se

pot intoxica dacă sunt sensibili la doza respectivă. Cazul cel mai cunoscut este intoxicarea în masă cu metilmercur provenit din compuşii cu mercur existenţi în apele uzate industriale din Japonia, Statele Unite, Suedia, Canada.

Toxicologia alimentară studiază modalităţile de introducere în organism a substanţelor toxice prin alimente şi apă, precum şi posibilitatea de prevenire a intoxicaţiilor de acest tip. În afara produselor toxice „*per se*" şi a contaminanţilor, toxicologia alimentară are în vedere şi intoxicaţiile cu aditivi alimentari şi deci prevenirea lor printr-o corectă autorizare a acestora.

Toxicologia pesticidelor studiază riscul toxic al diferitelor pesticide şi măsurile de profilaxie în cursul utilizării lor în agricultură şi cercetează reziduurile de pesticide în alimentele vegetale şi animale.

Toxicologia cosmeticelor şi a produselor menajere studiază efectele secundare ale componentelor cosmetice şi stabileşte măsurile de protecţie a populaţiei împotriva produselor chimice de uz casnic.

Toxicologia de război studiază obţinerea şi acţiunea substanţelor toxice de luptă şi a antidoturilor acestora, precum şi metodologia de detectare.

Toxicocinetica

Faza toxicocinetică se referă la acţiunea organismului asupra toxicului, şi cuprinde absorbţia, distribuţia, depozitarea (eventual acumularea), biotransformarea şi eliminarea toxicului sau a metaboliţilor săi.

Pătrunderea se poate realiza pe cale digestivă, respiratorie, transcutanată, transmucoasă (oculară, vaginală etc.), transplacentară sau parenterală (adică pe alte căi decât cele menţionate).

Absorbţia reprezintă trecerea toxicului din mediul extern în mediul intern (sânge şi limfă circulantă). Pentru a trece în mediul intern, toxicul trebuie să traverseze una sau mai multe membrane: mucoasele tractului gastrointestinal, mucoasele căilor respiratorii, straturile superficiale ale tegumentelor etc. Traversarea membranelor este condiţionată de: natura chimică şi organizarea moleculelor constitutive ale membranei; proprietăţile fizico-chimice ale substanţei toxice; structura fizico-chimică a mediului de o parte şi de cealaltă a membranei.

Traversarea membranei se realizează în principiu prin:

- *transport pasiv* sau *difuziune simplă,* constând din trecerea toxicului, în general fără consum de energie, dintr-un compartiment cu concentraţie mai mare spre un compartiment cu concentraţie mai mică, adică în sensul gradientului de concentraţie. Viteza de difuzie este cu atât mai mare cu cât toxicul are masa moleculară mai mică şi liposolubilitatea mai mare. Difuzia este principalul mijloc de traversare pentru medicamente, toxici gazoşi şi volatili anorganici cu masă moleculară mică, toxici organici volatili, toxici organici acizi, alcaloizi etc.
- *transportul activ* constă în trecerea toxicului, cu consum de energie, dintr-un compartiment cu concentraţia mai mică într-unul cu o concentraţie mai mare. Este caracteristic ionilor minerali.

Absorbţia pe cale digestivă are loc preponderent în intestinul subţire, datorită suprafeţei mari şi a vascularizării intense. În gură şi în esofag, contactul toxicului cu mucoasele este scurt, astfel încât absorbţia este redusă. Totuşi, toxicii foarte hidrosolubili (nicotină, KCN) se absorb rapid prin mucoasa bucală, putând genera intoxicaţii mortale. Substanţele corozive şi caustice nu se absorb în esofag, însă îi corodează peretele. În stomac se absorb toxicii foarte hidrosolubili, iar cei iritanţi pot determina spasm piloric (cu reţinerea toxicului în stomac) sau vărsături (cu eliminarea lui). Absorbţia este diminuată de prezenţa alimentelor din stomac. În colon, toxicul ajunge în cantităţi foarte reduse, mai ales în caz de accelerare a tranzitului intestinal. Factorii care influenţează absorbţia digestivă depind de toxic (lipo- sau hidrosolubilitate, grad de disociere, stabilitate chimică în tubul digestiv, mărimea moleculelor etc.) şi de organism (motilitatea intestinală, debitul evacuării gastrice, interacţiuni cu alimente sau cu alte xenobiotice).

Absorbţia pe cale respiratorie este favorizată de suprafaţa mare a alveolelor şi de structura acestora care permite trecerea rapidă în circulaţie a gazelor, vaporilor şi a aerosolilor toxici.

Absorbţia transcutanată se întâlneşte în cazul substanţelor toxice liposolubile, al mercurului şi taliului, al gazelor şi vaporilor şi chiar al unor toxici hidrosolubili când tegumentele nu sunt intacte. Pătrunderea transcutanată este favorizată de masaj, umiditate, temperatură crescută.

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Absorbţia transplacentară, cu implicaţii grave pentru dezvoltarea fetusului are loc în cazul unor medicamente şi a substanţelor toxice volatile, gazoase sau al metalelor grele.

Distribuţia, depozitarea şi acumularea

După pătrunderea în mediul intern, toxicii sunt vehiculaţi de sânge şi limfa circulantă spre lichidul interstiţial şi apoi spre celule. În timpul transportului, o fracţiune din toxic se leagă de proteinele plasmatice, în special de albumine („vehicule plasmatice"), formând complecşi inactivi, iar cealaltă fracţiune rămâne liberă; numai aceasta poate traversa membranele şi deci este singura activă. Între ambele fracţiuni se stabileşte un echilibru dinamic. Cantitatea de toxic legată depinde de concentraţia sa sanguină, de afinitatea pentru situsurile de legare şi de capacitatea proteinelor plasmatice de a le fixa (iar această capacitate este limitată). În general, substanţele liposolubile şi slab acide sunt mai puternic legate decât cele neutre. Substanţele cu capacitate mai mare de legare le deplasează pe cele cu capacitate redusă (competiţie de transport).

Din lichidul interstiţial, toxicii sunt distribuiţi, depozitaţi şi/sau acumulaţi, înainte de a fi metabolizaţi. Există şi toxici care se metabolizează în tubul digestiv sau în sânge.

Distribuţia reprezintă transferul substanţelor toxice din sânge în ţesuturi şi organe. Unii toxici (de exemplu, etanolul, metanolul) se distribuie uniform în toate ţesuturile. Majoritatea însă se distribuie selectiv în anumite ţesuturi, în raport cu permeabilitatea membranelor celulare şi cu proprietăţile fizico-chimice ale toxicului. În general, toxicii liposolubili străbat uşor membranele şi se distribuie în ţesuturi (organe) lipoide şi bine vascularizate (creier, măduvă osoasă). Toxicii liposolubili cu caracter bazic se distribuie în plămâni, rinichi, suprarenale. Toxicii liposolubili cu caracter slab acid şi cei excretabili prin bilă se distribuie în ficat. Toxicii hidrosolubili cu caracter bazic se distribuie în ficat, rinichi şi suprarenale.

O parte din toxic poate întâlni receptorii unde îşi exercită acţiunea toxică, iar cealaltă parte se poate depozita provizoriu sau acumula în diferite ţesuturi.

Depozitarea (localizarea) reprezintă procesul de fixare selectivă a toxicului în diferite ţesuturi sau organe. Intensitatea şi modul de depozitare

BCU IAŞI CENTRALA UNIVERSITARĂ LIBRARY

depind în principal de vascularizarea ţesutului şi de afinitatea chimică între toxic şi constituenţii ţesutului afectat. Astfel, ionii de Pb^{2+}, Ba^{2+}, F^- se depozitează în ţesutul osos, cei de As^{3+}, Se^{2-}, în fanere, iar Ag^+, în piele.

Acumularea substanţelor toxice în ţesuturi se realizează prin pătrunderea repetată sau continuă în organism a dozelor subtoxice de xenobiotice (substanţe străine organismului), de obicei rezistente la metabolizare şi cu grad redus de eliminare. Acţiunea toxică se produce şi prin acumularea toxicului (de exemplu pesticidele organoclorurate).

Biotransformarea (metabolizarea) substanţelor toxice

Metabolizarea presupune conversia enzimatică a substanţelor toxice în metaboliţi mai polari, mai uşor excretabili şi, de regulă, mai puţin toxici. Sunt unii metaboliţi mai toxici decât substanţa de plecare. Astfel, acidul fluoracetic se transformă în acid fluorcitric, adevărata otravă pentru organism.

Organismele acvatice nu posedă sisteme metabolizante pentru xenobiotice, deoarece ele excretă compuşii liposolubili direct în apă prin toată suprafaţa corporală. La organismele terestre însă, biotransformarea este indispensabilă, deoarece substanţele liposolubile sunt reabsorbite la nivelul tubular renal şi, de aceea, fără metabolizare, eliminarea lor ar fi de ordinul zilelor şi chiar aanilor (de exemplu, pentru eliminarea etanolului ar fi necesare 24 de zile).

Organismul animal are posibilitatea de a metaboliza aproape toate structurile chimice cunoscute. Toţi compuşii exogeni suferă metabolizare, cu excepţia compuşilor puternic polari (acizii şi bazele tari, minerali şi organici) şi unii compuşi nepolari (eter etilic, dieldrin etc.).

Metabolizarea este legată de funcţia vitală a organismelor de a se apăra de compuşii străini acestuia, ce pătrund separat sau odată cu substanţele nutritive (Voicu şi Olinescu, 1977) şi are loc, de regulă, în două faze:

A. În prima fază, un compus, activ sau inactiv biologic, este transformat prin reacţii de oxidare, reducere sau hidroliză, într-un alt compus, activ sau inactiv;

B. În faza a doua, compusul iniţial împreună cu produsul său de transformare trec, prin reacţii de conjugare, într-un compus inactiv biologic. Astfel, benzenul trece, în prima fază, prin oxidare directă sau prin intermediul

epoxidării, în fenol, difenoli şi trifenoli, iar aceştia suferă în faza a doua o conjugare, în principal cu acidul glucuronic şi cu ionul sulfat. Unele produse se metabolizează complet în prima fază (cum ar fi etanolul), în timp ce altele trec direct în faza a doua (fenolul).

În general, prin metabolizare, polaritatea compusului creşte. Compusul iniţial, de obicei liposolubil, devine polar în faza I şi mai polar în faza a II-a, când poate deveni puternic acid (majoritatea metaboliţilor) sau alcalin (de exemplu piridina). Fiind polari, aceşti ultimi metaboliţi străbat mai greu barierele membranare lipoidice, iar reabsorbţia tubulară este redusă. Aceasta creează impresia că biotransformarea are rolul de a mări polaritatea şi, indirect, de a reduce toxicitatea xenobioticelor.

Eterul etilic şi acidul ftalic sunt eliminaţi nemodificaţi, iar unele substanţe nepolare, cum ar fi insecticidul hexaclorciclohexan (HCH) şi insecticidele organoclorurate nu sunt uşor metabolizate şi nici excretate, fiind depozitate în ţesuturile grase din organism.

Faptul că un singur toxic poate fi metabolizat la un număr imens de produşi sugerează că organismul nu-l recunoaşte şi, ca urmare acesta doar interferă cu sistemele de metabolizare pe care corpul le utilizează de regulă pentru transformarea unor compuşi exogeni în compuşii proprii. Cu substanţele pe care corpul le recunoaşte, de exemplu proteinele, aminoacizii, grăsimile etc., lucrurile stau cu totul altfel: căile metabolice sunt precise şi biotransformarea lor se desfăşoară în aceeaşi manieră. Compusul chimic exogen perturbă buna funcţionare a organismului sau doar a unor ţesuturi şi organe şi, prin aceasta, intră în reacţie chimică sau de altă natură (fiziologică, mecanică etc.) cu componentele corpului. În cazul în care obiectul sau compusul introdus în corp nu afectează în nici un fel structura şi funcţiile organismului, acesta din urmă se comportă pasiv (proteze din argint sau material plastic implantate în corp).

Reacţiile din faza I constau din introducerea în moleculă a grupelor reactive cu polaritate crescută: -OH, $-NH_2$, -COOH, -SH. Cea mai frecventă dintre reacţiile acestei faze este oxidarea, însă pentru unele xenobiotice reducerea este singura cale de metabolizare, iar altele se degradează prin hidroliză (Tabelele 2, 3 şi 4).

Sediul metabolizării poate fi orice ţesut sau organ, însă sediul principal este ficatul. Enzimele de metabolizare există însă şi în organele şi în ţesuturile

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

care facilitează intrarea şi ieşirea din organism (piele, rinichi, plămân, intestin), precum şi în alte ţesuturi (ochi, plasmă etc.). Sediul metabolizării nu corespunde întotdeauna cu sediul principal al acţiunii toxice. Astfel, metanolul se metabolizează în primul rând în ficat, dar efectul toxic se exercită la nivelul retinei, SNC, rinichiului; hidroxilarea 2-naftilaminei are loc în ficat, dar efectul cancerigen apare în vezica urinară; tetraetilplumbul este transformat în trietilplumb în ficat, dar metabolitul este toxic în special pentru SNC; în cazul dimetilnitrozaminei, sediul metabolizării – ficatul – corespunde cu sediul principal al acţiunii toxice.

Enzimele corpului pot fi împărţite în două categorii: enzime biochimice (parametabolice) şi xenobiotice (xenometabolice).

Enzimele biochimice catalizează biotransformarea substanţelor endogene, precum şi a substanţelor (metaboliţilor) care prezintă asemănări structurale cu substanţele endogene, deoarece, o dată metabolizate şi ajunse la locul de acţiune a enzimelor, acestea nu le mai pot diferenţia de substratele lor normale şi le metabolizează pe aceeaşi cale. Enzime ca: alcooldehidrogenaza, aldehiddehidrogenaza, DOPA-decarboxilaza, monoaminooxidaza, colinesterazele nespecifice plasmatice, guanaza, nucleotidazele, xantinoxidaza degradează deopotrivă substratele naturale şi pe cele străine, dar similare ca structură.

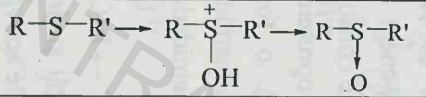
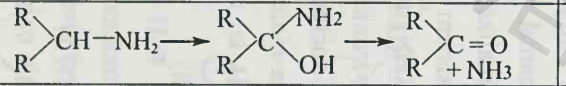
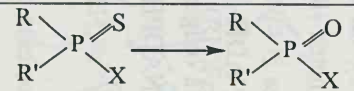
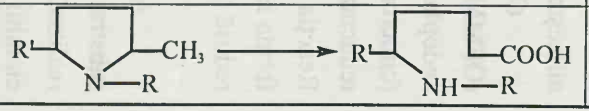
Enzimele xenobiotice catalizează biotransformarea majorităţii xenobioticelor (substanţe chimice industriale, poluanţi, medicamente, cancerigeni, aditivi alimentari), care nu prezintă, ca atare sau ca metaboliţi, asemănări structurale cu substratele normale. Aceste enzime au sediul în microzomi şi realizează în special oxidările. În 1948, Julius Axelrod a pus în evidenţă un sistem de enzime ce necesită NADPH şi oxigen molecular, oxidazele cu funcţii mixte microzomiale (Microsomal Mixed Function Oxydases) sau OFMM. În microzomi se mai găsesc şi unele reductaze şi hidrolaze.

Există şi substanţe metabolizate atât pe căile normale, cât şi pe cele caracteristice xenobioticelor. De exemplu, etanolul se oxidează în citoplasmă prin intermediul alcool-dehidrogenazei (enzimă biochimică) şi în microzomi prin intermediul unui sistem enzimatic asemănător.

Enzimele biochimice se mai deosebesc de OFMM prin localizarea, numărul, specificitatea şi activitatea lor.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Tabelul 2. Degradarea substantelor toxice prin reacţii de oxidare.

Reacţia	Formula generală	Exemple
Hidroxilare catenei alifatice	$R\text{-}(CH_2)_n\text{-}CH_3 \rightarrow R\text{-}(CH_2)\text{-}CH_2OH$	Fenazona → 3-hidroxi-fenazona
Hidroxilare aromatică	$Ar\text{-}X \rightarrow HO\text{-}Ar\text{-}X$	Benzenul → fenol
N-oxidare	$R_3N \rightarrow R_3N \rightarrow O$	Trimetilamina → trimetilamino-N-oxid
S-oxidare		Clorpromazina → S-oxidul clorpromazinei
O-dezalchilare	$R\text{-}O\text{-}CH_3 \rightarrow R\text{-}O\text{-}CH_2OH \rightarrow R\text{-}OH + HCHO$	Codeina → morfină
N-dezalchilare	$R\text{-}NH\text{-}CH_3 \rightarrow R\text{-}NH\text{-}CH_2OH \rightarrow R\text{-}NH_2 + HCHO$	Morfina → normorfină
S-dezalchilare	$R\text{-}S\text{-}CH_3 \rightarrow R\text{-}S\text{-}CH_2OH \rightarrow R\text{-}SH + HCHO$	Metiltiopurina → tiopurină
Dezaminare oxidativă		Amfetamina → fenilacetonă
Desulfurare		Parationul → paraoxon
Epoxidare		Aldrinul → dieldrin
Oxidare cu deschiderea ciclului		Nicotina → acid γ - (3 piridil) -γ – meti-amnobutiric

BCU IAŞI CENTRUL UNIVERSITAR LIBRARY

Enzimele de oxido-reducere biochimică au sediul în special în mitocondrii, enzimele de hidroliză în lizozomi, citoplasmă, plasmă sanguină, iar OFMM se găsesc aproape exclusiv în microzomi.

Enzimele biochimice sunt diversificate şi în cantitate suficientă pentru a satisface metabolizarea substratelor endo- şi exogene; numărul OFMM este mic sau chiar redus la un sistem unic şi universal de oxidaze.

Enzimele OFMM sunt lipsite de specificitate, deoarece metabolizează numeroase substraturi cu structuri diferite, în timp ce enzimele biochimice sunt specifice.

Enzimele biochimice sunt în stare activă, pe când OFMM se activează sub efectul direct al xenobioticelor, putând metaboliza atunci compusul care le-a activat, precum şi alţi compuşi metabolizaţi pe aceeaşi cale. Proprietatea se numeşte inducţie enzimatică.

Oxidarea este realizată de oxidazele cu funcţii mixte microzomiale (OFMM; Fig. 2), un sistem enzimatic component al membranelor reticulului endoplasmatic neted (REN). Acest sistem este constituit din două hemoproteine (citocromul P_{450} şi citocromul b_5), două flavoproteine (NADPH-citocrom P_{450}-reductaza şi NADH-citocrom b_5-reductaza), o fosfolipidă (fosfatidilcolina). Reacţia necesită oxigen molecular (O_2), nicotinamidadenin-dinucleotidfosfat în forma redusă (NADPH), iar uneori şi nicotinamidadenin-dinucleotidul în forma redusă (NADH):

$$R\text{-}H + O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow R\text{-}OH + H_2O$$

Atât disocierea moleculei de oxigen cât şi desfacerea legăturii R-H din substrat necesită un aport crescut de energie de activare şi, de aceea, organismul realizează această reacţie oxidare în opt etape, care sunt căi de reacţie în cadrul ciclului citocromului P_{450}:

1. Citocromul P_{450} (notat cu Fe^{3+}) complexează substratul nepolar, R-H;
2. Fierul heminic Fe^{3+} se reduce la Fe^{2+} prin transferul unui electron de la NADPH, prinintermediul NADPH-citocrom P_{450}-reductazei;
3. Oxigenul molecular formează un complex ternar, $(RH)Fe^{2+}(O_2)$;
4. Un al doilea electron se transferă de la NADPH (prin intermediul NADPH-reductazei) ori de la NADPH sau NADH (prin intermediul citocromului b_5), cu formarea unui anion peroxidic;

BCU IAŞI "GRIGORE T. POPA" UNIVERSITY LIBRARY

5. Anionul peroxidic leagă hidrogenul, cu formare de apă şi de complex $RH(Fe\text{-}O)^{3+}$;
6. Hidrogenul din substratul R-H se transferă pe oxigen, cu formarea radicalului intermediar $(R^{\circ})(Fe\text{-}OH)^{3+}$;
7. Radicalul substratului se recombină cu radicalul hidroxil din complex, cu formarea produsului de hidroxilare, R-OH;
8. Produsul R-OH regenerează forma oxidată a citocromului P-450 şi ciclul se închide.

În prezenţa unor oxidanţi puternici (hidroperoxizi, X-OOH), ciclul se poate întrerupe. O descriere mai detaliată a fost realizată de Rose şi Hodgson (2004).

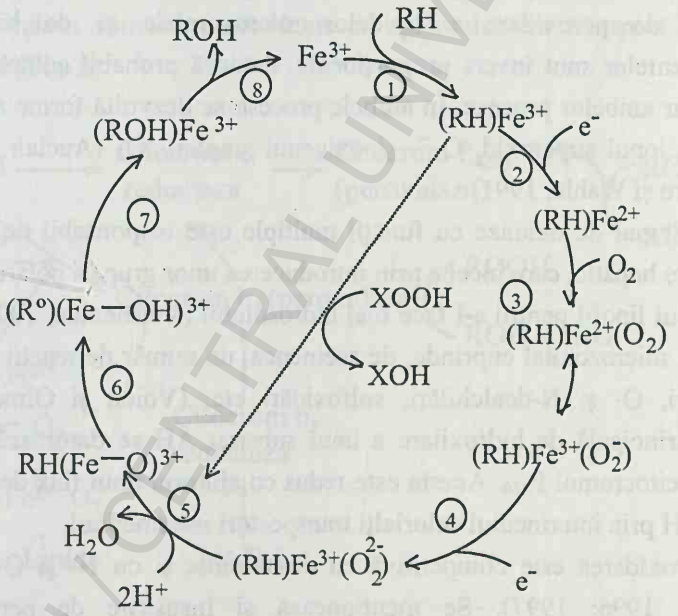


Figura 2. Reacţiile de hidroxilare microzomială la nivelul citocromului P_{450} cu participarea enzimelor OFMM (după Cotrău, 1993).

Hidroxilarea substanţelor toxice se face în microzomii hepatici prin labilizarea moleculelor acestora datorită introducerii grupărilor adiţionale, mai

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

ales a grupei hidroxil, HO. Citocromul P_{450} constituie locul acţiunii oxigenului, acesta funcţionând ca o monooxigenază în procesul de oxidare a diverselor substanţe (hidrocarburi policiclice, medicamente, steroizi, colesterol, acizi graşi etc.).

Superoxid dismutaza catalizează descompunerea superoxidului printr-o reacţie de disproporţionare în oxigen şi peroxid de hidrogen:

$$2O_2^- + 2H^+ \rightleftharpoons H_2O_2 + O_2$$

Această enzimă inhibă inhibă astfel reacţiile de hidroxilare sau demetilare ale unor substanţe toxice, iar adăugarea unui sistem generator de superoxid (xantină + xantin oxidază) stimulează hidroxilarea unor toxice de către sistemul enzimatic microzomial.

Există un vast material experimental în favoarea peroxidării lipidelor microzomiale în unele condiţii în cursul metabolizării medicamentelor. Vitezele reacţiilor de peroxidare a lipidelor microzomiale şi de hidroxilare a medicamentelor sunt invers proporţionale, datorită probabil competiţiei pentru O_2 necesar ambelor procese. În ambele procese se dezvoltă forme active ale O_2 cum sunt ionul superoxid, O_2^-· şi oxigenul singlet, $^1O_2$ (Auclair şi Lecomte, 1978; Hare şi Wahle, 1991).

Sistemul de oxidaze cu funcţii multiple este responsabil de procesul de detoxifiere hepatic, care începe prin introducerea unor grupări polare în structura substratului lipofil pentru a-l face mai hidrosolubil (Vermeulen, 2003). Sistemul enzimatic microzomial cuprinde, de asemenea, un număr de reacţii oxidative ca hidroxilări, O- şi N-dealchilări, sulfoxidări etc. (Voicu şi Olinescu, 1977). Reacţia principală de hidroxilare a unui substrat AH se datorează contactului direct cu citocromul P_{450}. Acesta este redus cu ajutorul unui flux de electroni de la NADPH prin intermediul celorlalţi transportori intermediari.

Peroxidarea este competitivă cu desaturarea şi cu N- şi O-dealchilarea (O'Brien, 1996; 1997). Se menţionează şi însuşirile de peroxidază ale hemoproteinelor din sistem (citocromii P_{450} şi b_5), cât şi condiţiile în care are loc peroxidarea lipidelor microzomiale: Fe^{3+} liber, dar mai ales complexat cu ADP sau pirofosfat.

In vivo poate avea loc o peroxidare a lipidelor microzomiale din ficat. Mecanismul cel mai probabil se bazează pe structura hemoproteinică a componenţilor sistemului microzomial, a capacităţii acestora de a acţiona ca o

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

peroxidază. Producerea unor specii reactive, fie prin activarea O_2 ($^1O_2$), fie prin peroxizi (H_2O_2 sau lipidici), este sigură datorită chemiluminiscenţei ce însoţeşte hidroxilarea microzomială *in vitro*. După Peter O'Brien, O_2 şi citocromul P_{450} sunt componentele ambelor procese şi pot realiza hidroxilarea unor medicamente. Ramura peroxidantă, deşi este mai simplă deoarece nu necesită prezenţa celorlalţi citocromi, determină totuşi distrugerea citocromului P_{450}. O dovadă suplimentară a posibilităţii peroxidării lipidelor microzomiale este dată de amplificarea acestui proces sub acţiunea radiaţiilor ionizante (Wills şi Daves, 1972).

Peroxizii organici pot substitui NADPH şi O_2 într-o serie de hidroxilări, modificând biosinteza hepatică a unor compuşi cum ar fi acizii biliari. Modificări minore ale membranelor microzomiale, aşa cum se produc în intoxicaţii cronice cu solvenţi organici sau metale grele, pot crea condiţii pentru creşterea ponderii ramurii peroxidante a sistemului de transport electronic microzomial (Fig. 3).

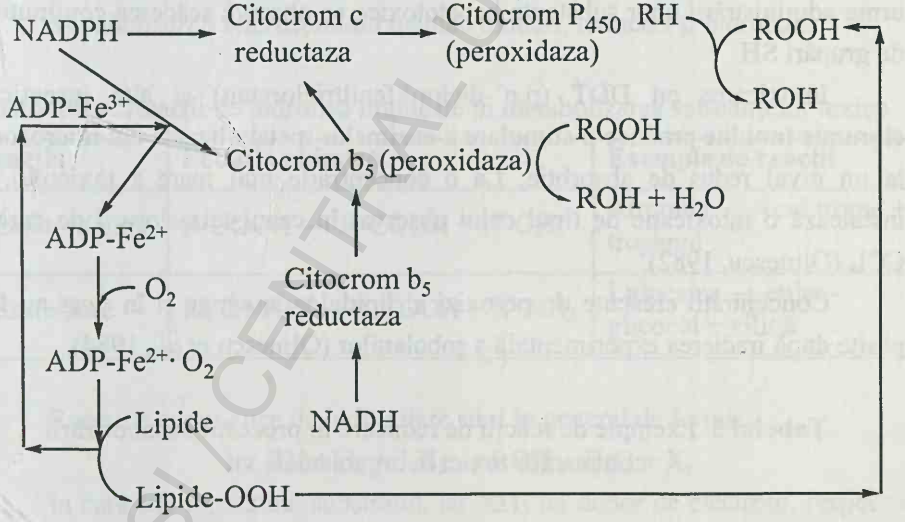


Figura 3. Schema ipotetică a hidroxilării compuşilor străini corpului datorită activităţii peroxidazice a citocromilor P_{450} şi b_5

Peroxidarea lipidelor constituie un proces firesc al cărui rol creşte odată cu creşterea concentraţiei substanţelor toxice sau a medicamentelor supuse metabolizării. De aceea, în procesul detoxifierii creşte semnificativ concentraţia lipidelor peroxidate (Olinescu, 1982).

În ficat, peroxidarea lipidelor reprezintă un fenomen fiziologic controlat de sistemele protectoare care, în anumite limite, nu conduce la pierderea acizilor graşi polinesaturaţi. Pe baza acestei constatări, peroxidarea lipidelor în ficat ar fi un răspuns nespecific la o agresiune chimică, explicându-se astfel apariţia peroxizilor lipidici şi a produşilor de descompunere (dialdehida malonică, etan etc.) în urma intoxicării cu substanţe cu caracter lipofil ce sunt metabolizate prin sistemul hidroxilant microzomal dependent de NADPH. Astfel, peroxizii lipidici şi produşii lor de descompunere au fost detectaţi în urma intoxicării cu CCl_4, etanol, bromotriclormetan sau paraquat. O dovadă suplimentară a implicării peroxidării în instalarea unei hepatotoxicităţi este efectul protector al glutationului, dietilditiocarbamatului şi cistaminei (Masubuchi *et al.*, 2011), compuşi ce eliberează grupări SH libere şi cu acţiune antioxidantă. Totodată, în urma administrării unor substanţe hepatotoxice se observă scăderea conţinutului de grupări SH.

Intoxicarea cu DDT (p,p'-diclordifeniltricloretan) şi alte insecticide clorurate înrudite produce o stimulare a enzimelor metabolizante din microzomi, la un nivel redus de absorbţie. La o concentraţie mai mare a toxicului, se instalează o intoxicaţie de tipul celui observat în cazul tetraclorurii de carbon CCl_4 (Olinescu, 1982).

Concentraţii crescute de peroxizi ai lipidelor în sânge şi în ficat au fost găsite după iradierea experimentală a şobolanilor (Olinescu *et al.*, 1984).

Tabelul 3. Exemple de reacţii de reducere în procesul metabolizării compuşilor toxici în organismele vii

Reacţia
Aldehidă → Alcool primar: R-CHO → R-CH_2-OH
Cetonă → Alcool secundar: R-COR' → R-CHOH-R'
Saturarea dublei legături: R-CH=CH-R' → R-CH_2-CH_2-R'

Nitroderivat → Amină: $R\text{-}NO_2 \rightarrow R\text{-}NO \rightarrow R\text{-}NHOH \rightarrow R\text{-}NH_2$
Azoderivat → Amine: $R\text{-}N{=}N\text{-}R' \rightarrow R\text{-}NH\text{-}NH\text{-}R' \rightarrow R\text{-}NH_2 + H_2N\text{-}R'$
Acid hidroxamic → Amidă: $R\text{-}CONHOH \rightarrow R\text{-}CONH_2$
Ditiol → Tiol: $R\text{-}S\text{-}S\text{-}R' \rightarrow R\text{-}SH + R'\text{-}SH$
Reducerea As(V) → As(III): $R\text{-}AsO(OH)_2 \rightarrow R\text{-}As{=}O$

Importanţa practică a fenomenului de inducţie enzimatică constă în faptul că administrarea cronică a unei substanţe toxice sau a unui medicament creşte nivelul enzimelor implicate în metabolizarea proprie, iar datorită nespecificităţii marcante, administrarea unui medicament induce o metabolizarea crescută a altor substanţe (Voicu şi Olinescu, 1977).

Nicotina măreşte astfel activitatea enzimelor care metabolizează o serie de medicamente şi chiar metabolismul nicotinei este mai intens la fumători decât la nefumători, cel mai probabil datorită efectului inductor al hidrocarburilor policiclice din ţigară.

Metabolizarea microzomială include oxidări, reduceri şi hidrolize.

Tabelul 4. Reacţii de hidroliză implicate în metabolizarea substanţelor toxice

Reacţia	**Ecuaţia chimică**	**Exemple de reacţii**
Dezesterificare	$R\text{-}COOR' \rightarrow R\text{-}COOH + R'\text{-}OH$	Atropina → Acid tropic + tropanol
Dezaminare	$RCONHR' \rightarrow R\text{-}COOH + R'\text{-}NH_2$	Lidocaina → etilen-glicocol + xilină

Reacţiile enzimatice de hidroxilare sunt în general de forma:

$$RH + O_2 + XH_2 \rightarrow ROH + H_2O + X,$$

în care RH reprezintă substratul, iar XH_2 un donor de electroni, respectiv $NADPH_2$ (Voicu, Olinescu, 1977).

Reducerea este realizată de reductaze (nitro- şi azo-) NADH- sau NADPH-dependente, microzomiale.

Oxidoreducerile microzomiale se realizează sub influenţa *dioxigenazelor*, care încorporează ambii atomi de oxigen în substrat,

BCU MS CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

$$O_2 + \text{substrat} \rightarrow \text{Substrat}—O_2$$

a *oxigenazelor*, care reduc O_2, fie la H_2O_2, fie la două molecule de H_2O, fără încorporarea O_2 în substrat:

$$O_2 + 2H^+ (4H^+) + 2e^- \rightarrow H_2O_2 (2H_2O)$$

sau a *monooxidazelor*, care încorporează un atom de oxigen în substrat şi reduc celălalt oxigen la apă:

$$O_2 + \text{substrat} + \text{Donor}—H_2 \rightarrow \text{Substrat}—OH + H_2O + \text{Donor}$$

Hidroliza are loc sub acţiunea esterazelor şi amidazelor microzomiale.

Metabolizarea non-microzomială include, de asemenea, oxidări (oxidarea alcoolilor primari, a aldehidelor alifatice şi aromatice, dezaminarea oxidativă a aminelor aromatice şi aril-substituite), precum şi reduceri (disulfuri, N-oxizi, S-oxizi) şi hidrolize (esteri, amide), însă enzimele sunt localizate în mitocondrii, citoplasmă, plasmă sanguină.

Implicaţiile toxicologice ale metabolizării din faza I:

- metaboliţii sunt mai polari, dar nu neapărat mai puţin toxici şi nu se poate defini biotransformarea ca detoxifiere;
- apariţia metaboliţilor mai toxici explică faptul că unele xenobiotice sunt inactive *in vitro*, dar devin active *in vivo* (Parationul, Schradanul, glucozizii cianogenici, cloralhidratul, fenacetina etc.);
- apariţia metaboliţilor cu activitate diferită de cea a compusului iniţial este caracteristică unor xenobiotice (de exemplu primidona trece parţial în fenobarbital cu proprietăţi sedative, alături de cele anticonvulsivante);
- activarea enzimelor microzomiale, respectiv inhibarea, sub acţiunea xenobioticelor administrate concomitent sau anterior dă naştere la fenomenul de *inducţie*, respectiv de *inhibiţie* enzimatică.

Reacţiile din faza a II-a reprezintă conjugări: glucuronoconjugarea, sulfoconjugarea, acetilarea, glicocolconjugarea, glutaminconjugarea, metilarea, mercaptarea şi sulfurizarea (Tabelele 5 şi 6).

Una dintre cele mai importante reacţii este glucuronoconjugarea, deoarece acidul glucuronic, glucuronil-transferaza şi nucleotidul de activare se găsesc în majoritatea ţesuturilor (ficat, rinichi, intestin) şi, de asemenea, datorită varietăţii de grupări (-OH, -SH, $-NH_2$) pe care acidul glucuronic poate fi transferat. Glucuronil-transferaza este localizată în microzomi. Sulfoconjugarea se realizează asupra aceloraşi grupări ca şi glucuronoconjugarea, prin transferul sulfatului provenit în special din aminoacizi sulfuraţi.

Tabelul 5. Reacţii de conjugare necesare îndepărtării substanţelor toxice din corp.

Reacţia	Compuşii iniţiali	Compuşii finali	Enzima	Activare prin
Glucurono-conjugarea	Derivaţi hidroxilici, tiolici, carboxilici, aminici	O-gluconoride de tip eter S-gluconoride de tip tioeter O- gluconoride de tip ester N- gluconoride	Gluconoril-transferaza	UTP
Sulfo-conjugarea	Derivaţi hidroxilici, tiolici, aminici	Esteri sulfurici, tiosulfurici, sulfamaţi	Sulfo-transferaza	ATP
Acetilarea	Amine aromatice, sulfonamide, hidrazine, acid p-aminobenzoic	Derivaţi N-acetilaţi	N-acetil-transferaza	CoA
Glicocol-conjugarea	Derivaţi carboxilici (COOH fixat direct pe ciclul aromatic sau prin intermediul unei catene laterale)	Derivaţi ai aril-glicocolului	Glicocol-N-acilaza	CoA
Glutamin-conjugarea	Unii acizi aril-acetici	Derivaţi ai fenil-acetil-glutaminei		CoA
Metilarea	Derivaţi N-heterociclici, amine aromatice endogene, fenoli, tioli, As (Se, Te)	Derivaţi N, O, S-metilaţi	Metil-transferaza	ATP
Mercaptare (cistein sau glutation-conjugare)	Hidrocarburi aromatice, derivaţi halogenaţi aromatici	Acizi aril-mercapturici	Cistein-(glutation)-transferaza	
Sulfurizare	Acid cianhidric, cianuri, nitrili	Sulfocianuri (tiocianaţi)	Rodanaza (tiosulfat: cianuri-sulf-transferaza	

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Sulftransferaza se găseşte în citoplasmă, mai ales în ficat şi în intestin. Acetilarea are loc în ficat şi în celulele sistemului reticulo-endotelial. Conjugarea cu glicocolul se realizează în ficat. Metilarea are loc în ficat şi în rinichi şi spoliază organismul de grupări metil pe care le transferă de la metionină şi de la bazele xantinice. Mercaptarea are sediul în rinichi, iar metaboliţii rezultaţi sunt uneori mai toxici, însă mai uşor de eliminat. Sulfurizarea reprezintă o detoxifiere reală deoarece toxicitatea sulfocianurii faţă de cianură este foarte slabă, însă eficienţa reacţiei este redusă din cauza cantităţilor limitate de rodanază disponibilă.

Un număr mic de xenobiotice poate lua parte la reacţii de sinteză denumite sinteze letale din care rezultă compuşi toxici.

Biotransformarea este influenţată de factori endogeni şi exogeni de tipul: specie, rasă, vârstă, sex, stări patologice, starea de nutriţie, bioritmul, factorii de mediu, interacţiunile cu alte xenobiotice sau cu factorii nutritivi.

Biotransformarea reprezintă calea majoră de eliminare a substanţelor toxice din organism. Sistemele enzimatice pot fi însă depăşite, având drept consecinţă spolierea organismului de grupările acetil, metil, sulfat, tiol etc., care sunt necesare reacţiilor din faza a II-a; creşterea cerinţei de NADPH, care este necesar enzimelor de tip OFMM, are consecinţe asupra unor căi metabolice normale ale organismului.

Eliminarea substanţelor toxice din corp

Nocivitatea unei substanţe este cu atât mai mare cu cât eliminarea sa este mai lentă. În principiu, eliminarea se realizează pe cale renală, digestivă, pulmonară şi transcutanată.

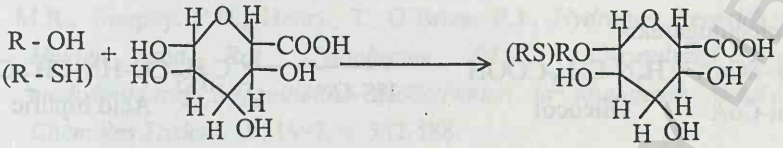
Calea renală este cea mai importantă modalitate de eliminare a substanţelor toxice din corp. Pe această cale se elimină toxicii cu mase moleculare sub 400 Daltoni.

Eliminarea renală se realizează prin trei mecanisme: filtrarea glomerulară, secreţia activă şi reabsorbţia tubulară. Viteza eliminării depinde de:

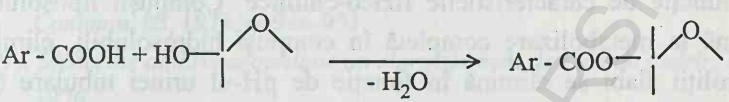
- debitul urinar, dependent de parametrii interni şi externi;
- rata de fixare a proteinelor plasmatice (legarea într-un procent mai ridicat a toxicului conduce la eliminarea sa mai lentă);

Tabelul 6. Reacţii de conjugare tipice

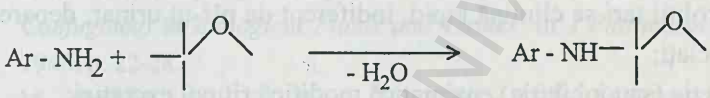
1. Glucuronoconjugarea:



Acid D-glucuronic — O (sau S) - glucuronid de tip eter (tioeter)

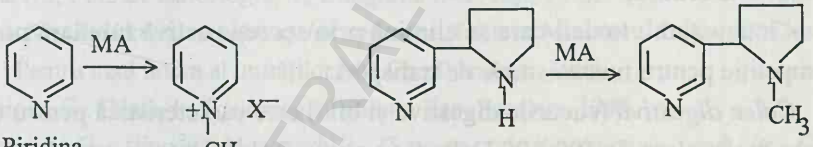


O - glucuronid de tip ester

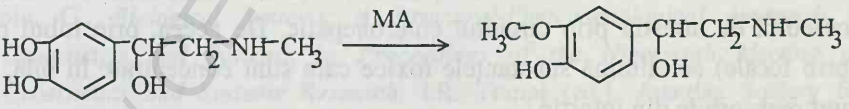


N - glucuronid

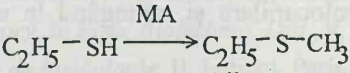
2. Metilarea:



Piridina — N-metil-piridiu — Nornicotina — Nicotina



Adrenalina — Metnefrina



Etilmercaptan — Etilmercaptan metilat

MA, Metil activat pe calea acid folic, viatmina B12 etc.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

3. Acetilarea

$$\underset{\text{Sulfanilamida}}{H_2N\text{-}C_6H_4\text{-}SO_2NH_2} + \underset{\text{Acetil-CoA}}{CH_3\text{-}CO\sim SCoA} \xrightarrow[-HS\text{-}CoS]{} \underset{\text{N-4-acetilsulfanilamida}}{CH_3CONH\text{-}C_6H_4\text{-}SO_2NH_2}$$

4. Glicocolconjugarea:

$$\underset{\text{Benzoil-CoA}}{C_6H_5\text{-}CO\sim SCoA} + \underset{\text{Glicocol}}{H_2N\text{-}CH_2\text{-}COOH} \xrightarrow{-\text{HS-CoA}} \underset{\text{Acid hipuric}}{C_6H_5\text{-}CO\text{-}HN\text{-}CH_2\text{-}COOH}$$

- pH-ul urinar: o parte din toxicul filtrat glomerular poate fi reabsorbită tubular, în funcţie de caracteristicile fizico-chimice. Compuşii liposolubili se reabsorb până la metabolizare completă în compuşi hidrosolubili, eliminabili renal; electroliţii slabi se elimină în funcţie de pH-ul urinei tubulare (pH-ul alcalin favorizează eliminarea compusului acid, ionizat, deoarece reabsorbţia tubulară este împiedicată, iar pH-ul acid favorizează eliminarea compusului bazic); electroliţii tari se elimină rapid, indiferent de pH-ul urinar, deoarece sunt complet disociaţi;
- inducţia (sau inhibiţia) enzimatică modifică ritmul excreţiei;
- vârsta şi integritatea funcţiei renale: la vârstnici şi taraţi renal eliminarea toxicului este redusă;
- interacţiuni: toxicii care se elimină prin secreţia activă tubulară pot intra în competiţie pentru mecanismele de transport.

Calea digestivă (sucurile digestive şi bila) este caracteristică pentru toxicii cu mase moleculare de 400-500 Daltoni (u.a.m.). Rolul ficatului este deosebit de important pentru eliminarea substanţelor toxice din organism, deoarece aici are loc metabolizarea lor intensă. Efectul său este însă modificat de reabsorbţia toxicului de intestin prin circuitul enterohepatic. De aceea, prin tubul digestiv (prin fecale) se elimină substanţele toxice care sunt concentrate în bilă, dar nu sunt reabsorbite din intestin.

Calea pulmonară este specifică gazelor şi substanţelor volatile care străbat membrana alveolocapilară şi, ajungând la alveole, sunt evacuate prin expiraţie.

Alte căi de eliminare suntprin tegumente, fanere, glande sudoripare etc. Astfel, pe aceste căi se elimină metale grele, arsenul, halogenurile, unele substanţe volatile, iar prin glanda mamară se elimină o serie de medicamente şi toxici.

Bibliografie

Anari, M.R., Khan, S., O'Brien, P.J., *The Involvement of Cytochrome P450 Peroxidase in the Metabolic Bioactivation of Cumene Hydroperoxide by Isolated Rat Hepatocytes*, în *Chem Res Toxicol*, 9, 1996, p. 924-931.

Anari, M.R., Josephy, P.D., Henry, T, O'Brien, P.J., *Hydrogen Peroxide Supports Human and Rat Cytochrome P450 1A2-catalyzed 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline Bioactivation to Mutagenic Metabolites*, în *Chem Res Toxicol*, 10, 1997, p. 582-588.

Auclair, C., Lecomte, M.-C., *Singlet Oxygen Production Associated with Hydroperoxide Induced Lipid Peroxidation in Liver Microsomes*, în *Biochem Biophys Res Commun*, 85, 1978, p. 946-951.

Bott, V., *Médecine anthroposophique un élargissement de l'art de guérir*, Triades, Paris, 1976.

Brodie, B.B., Axelrod, J., *The Estimation of Acetanilide and Its Metabolic Products, Aniline, N-acetyl p-aminophenol and p-aminophenol (Free and Total Conjugated) in Biological Fluids and Tissues*, în *J Pharmacol Exp Ther*, 94, 1948, p. 22-28.

Cotrău, M., Popa, L., Stan, T., Preda, N., Kincses-Ajtay, M., *Toxicologie*, Editura Dididactică şi Pedagogică, Bucureşti, 1991.

Cotrău, M., *Curs de toxicologie*, V, Litografia IMF, Iaşi, 1975.

Cotrău, M., *Toxicologia substanţelor organice*, Editura Ministerul Industriei Chimice – Pentru uzul intern al unităţilor M.I.Ch., Bucureşti, 1985.

Drochioiu, G., Druţă, I., *Toxicologie*, Editura Tao, Suceava, 1999.

Drochioiu, G., *Eugen Macovschi's Concept of Biostructure and Its Current Development*, in *Life and Mind. In Search of the Physical Basis*, S. Savva (ed.), Trafford Publishing, Victoria, BC, Canada, 2006, p. 43-60.

Drochioiu, G., *Biological Systems: A Structural-Phenomenological Approach in Cybernetics and Systems*, în *Proceedings of the Nineteenth Meeting on Cybernetics and Systems Research*, I.R. Trappl (ed.), Austrian Society for Cybernetic Studies, Vienna, 2008, p. 203-208.

Drochioiu, G., Oniscu, C., Grădinaru, R., Murariu, M., *The Biostructural Theory versus the Chemiosmotic Theory*, în *Rom. Biotechnol. Lett.*, 9, 2004, p. 1579-1586.

Fabre, R., Truhaut, R., *Précis de toxicologie*, II, Lorient, Paris, France, 1960.

Hare, W.R., Wahle, K.W.J., *The Participation of Soluble Factors in the ω-oxidation of Fatty Acids in the Liver of the Sheep*, în *Lipids*, 26, 1991, p. 102-106.

Hodge, H.C., Sterner, J.H., *Combined Tabulation of Toxicity Classes*, în W.S. Spector, *Handbook of Toxicology*, Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1956.

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Hughes, W.W., *Essentials of Environmental Toxicology*, Taylor & Francis, Washington / Bristol / London, 1996.

Macovschi, E., *Biostructura*, Editura Academiei, Bucureşti, 1969.

Macovschi, E., *The Biostructural Theory and the Criticism of Contemporary Molecularism*, în *Biochem Experim Biol*, 15, 1979, p. 173-202.

Manahan, S.E., *Toxicological Chemistry and Biochemistry*, 3rd edition, CRC Press, Boca Raton / London / New York / Washington, DC, 2003.

Masubuchi, Y., Nakayama, J., Sadakata, Y., *Protective Effects of Exogenous Glutathione and Related Thiol Compounds against Drug-induced Liver Injury*, în *Biol Pharm Bull*, 34, 2011, p. 366-370.

Olinescu, R., *Peroxidarea in chimie, biologie si medicina*, Editura Ştiinţifică şi Enciclopedică, Bucureşti, 1982.

Olinescu, R., Smith, T.L., Hertoghe, J., *The Body's Battle against Pollution*, Nova Science Publishers, Commack, NY, 1997.

Popa, I., *Toxicologie*, Editura Medicală, Bucureşti, 1978.

Prigogine, I., Stengers, I., *Order out of Chaos. Man's New Dialogue with Nature*, Bantam Books, New York, 1984.

Rîşca, I.M., Ştiucă, P., *Biological Nanostructures: A Biostructural Approach*, în *Research Trends in Mechanics*, II, Editura Academiei Române, Bucureşti, 2008.

Rose, R.L., Hodgson, E., *Metabolism of Toxicants*, în *A Textbook of Modern Toxicology*, 3rd edition, edited by Ernest Hodgson, John Wiley & Sons, Inc., 2004.

Schueuermann, G., Markert, B., *Ecotoxicology*, Wiley, New York / Chichester / Weinheim / Brisbane / Singapore / Toronto, 1997.

Vermeulen, N.P., *Prediction of Drug Metabolism: The Case of Cytochrome P450 2D6*, în *Curr Top Med Chem*, 3, 2003, p. 1227-1239.

Voicu, V., Olinescu, R., *Mecanisme enzimatice în farmacodinamie*, Editura Stiinţifică şi Enciclopedică, Bucureşti, 1977.

Walker, C.H., Hopkins, S.P., Sibly, R.M., Peakall, D.B., *Principles of Ecotoxicology*, Taylor & Francis, Bristol / London, 1997.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

2. Toxicologie generală

Toxicodinamia

Toxicodinamia reprezintă acţiunea substanţelor toxice asupra organismului.

Efectele nocive ale substanţelor toxice se resimt la nivel de ţesut, organ, aparat şi sistem. Totalitatea proceselor biochimice şi fizico-chimice care au loc în cadrul interacţiunii toxic-organism constituie astfel acţiunea toxicodinamică.

Toxicii provoacă modificări rapide şi adesea reversibile care au loc la nivel celular şi subcelular, observabile prin microscopie optică şi electronică. Modificările patologice din ţesuturi sunt precedate de modificări în biochimia lor. În toate leziunile biochimice, la baza procesului se poate găsi şi o reacţie moleculară sau un set de astfel de reacţii. Interacţiunea toxic-organism a fost explicată prin interacţiunea dintre toxici şi/sau metaboliţi şi anumite molecule ale organismului. Situsul primar de acţiune toxică s-ar afla aşadar la nivel molecular. Mai mult, numai anumite grupări din moleculă (-COOH, $-NH_2$, -OH, -SH) ar fi reactive, iar restul moleculei doar „modulează" reacţia, astfel încât majoritatea reacţiilor au loc la nivel submolecular.

Relaţia structură-activitate

Considerând efectul biologic al unei substanţe ca fiind rezultatul interacţiunii dintre aceasta şi o moleculă ţintă din corp, acesta poate fi legat de anumite proprietăţi structurale ale substanţei respective. Totuşi, datorită complexităţii sistemelor biologice, nu se cunosc întotdeauna mecanismele moleculare precise prin care se manifestă toxicitatea multor substanţe. De exemplu, o substanţă este puternic cancerigenă, în timp ce o alta, deşi posedă o structură asemănătoare, poate fi aproape inofensivă. De pildă, α-naftilamina este toxică dar, nu cancerigenă, în timp ce β-naftilamina este un cancerigen puternic (Zeegers şi colab., 2000). De asemenea, o substanţă poate inhiba activitatea unei anumite enzime, iar o alta asemănătoare structural cu prima, nu. Cu toate

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

acestea, pentru un număr relativ mare de compuşi pot fi identificate acele proprietăţi structurale responsabile de efectul lor nociv.

Dacă doi compuşi au acelaşi tip de efect toxic, atunci diferenţele dintre intensitatea acţiunii unuia şi a celuilalt depind de diferenţele dintre proprietăţile toxicocinetice şi cele de afinitate faţă de moleculele ţintă ale celor două substanţe. Proprietăţile toxicologice ale unei substanţe pot fi prezise cu condiţia să se cunoască relaţia dintre proprietăţile fizico-chimice şi toxicitate în cadrul unei clase de compuşi chimici.

Acţiunea substanţelor toxice la nivel de ţesut, organ, aparat, sistem

Sistemul nervos poate fi afectat de toxici în toate sectoarele sale: central, periferic, vegetativ, prin acţiune directă (la nivelul centrilor nervoşi, al sistemelor neuroefectoare şi al sistemelor aferente neuroacceptoare) şi indirectă (ca urmare a hipoxiei, hipercapniei, modificărilor hidroelectrolitice şi acido-bazice sau colapsului vascular). Principalele tulburări neurologice şi psihice din intoxicaţiile acute sunt:

- coma toxică ce apare în intoxicaţiile acute, în special medicamentoase şi care prezintă variaţii simptomatice în funcţie de toxic;
- convulsiile care sunt consecinţa hiperexcitabilităţii zonelor motorii din scoarţă sau a unor centri nervoşi motori şi medulari;
- tulburările motorii (pareze, paralizii) şi senzitive (neuromialgii, anestezii, parestezii) ce au diferite substraturi;
- midriaza, mioza, rigiditatea pupilară pot apărea direct, generate de toxic prin stimulenţi vegetativi, ca şi prin blocarea sistemelor enzimatice vegetative sau prin stări hipoxice;
- delirul, cu sau fără halucinaţii, ce poate apare în intoxicaţiile acute cu febră sau cu insuficienţă renală acută, cu tulburări circulatorii şi anemie gravă;
- cefaleea, insomnia, somnolenţa, apatia, anxietatea, iritabilitatea care sunt tulburări neuropsihice.

Leziunile histopatologice la nivelul sistemului nervos central îmbracă diferite forme, în raport cu specificul toxicului. În intoxicaţiile acute şi în unele cronice (de exemplu în saturnism) se observă o degenerescenţă mielinică la nivelul nervilor periferici.

Sistemul cardiovascular este afectat de toxici, direct sau indirect, prin acţiunea acestora asupra principalelor verigi ale circulaţiei: contractibilitatea miocardului, frecvenţa cardiacă, volumul sanguin circulant, vasomotricitatea.

- Tulburările de contractibilitate survin prin acţiune directă asupra miocardului sau printr-un regim circulator coronarian inadecvat sau ca urmare a hipoxiei;

- Tulburările de ritm apar prin acţiune asupra sistemului nervos periferic, ca şi asupra fasciculelor excitoconducătoare ale miocardului;

- Scăderea volumului sanguin circulant are loc, în principal, prin creşterea permeabilităţii capilare cu extravazare de plasmă în ţesuturi, cavităţi seroase, lumen gastrointestinal;

- Alterările vasomotricităţii sunt vasodilataţia (prin deprimarea SNC) şi vasoconstricţia.

Dintre manifestările clinice ale tulburărilor cardiovasculare din intoxicaţiile acute, insuficienţa circulatorie acută periferică (şocul toxic sau colapsul toxic) şi stopul cardiac sunt modalităţile cele mai frecvente de letalitate.

Aparatul respirator poate fi afectat pe următoarele căi:

- inflamaţia acută a mucoasei tractului respirator care poate conduce la asfixie, prin lipsă de aer;

- alterarea permeabilităţii membranei alveolocapilare, urmată, imediat sau tardiv, de edem pulmonar acut toxic;

- excitarea sau deprimarea centrilor respiratori poate conduce la stop respirator;

- blocarea hemoglobinei circulante (ca în cazul monoxidului de carbon, CO) sau a respiraţiei celulare (cazul ionului cian, CN^-) conduce la asfixie prin incapacitatea de fixare a oxigenului pe hemoglobină, respectiv prin anoxie tisulară;

- paralizia muşchilor respiratori determină asfixie.

Ficatul poate fi lezat prin acţiune toxică directă asupra hepatocitului sau prin acţiune trofopatică, când se produce carenţa în unii factori indispensabili hepatocitului. Se pot produce hepatopatii şi prin hipersensibilitate individuală sau prin imaturitate hepatică (perioada neonatală) sau prin deficit enzimatic. Toate formele de hepatopatii implică scăderea circulaţiei intrahepatice.

BCU ASE / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Toxicii liposolubili afectează predominant hepatocitele, iar cei hidrosolubili, celulele tubulorenale.

Leziunile hepatice interesează atât parenchimul (hepatocitele), cât şi mezenchimul. Iniţial se produce degenerescenţa hepatocitelor, urmată de inflamarea mezenchimului. Aceasta din urmă nu are loc dacă lezarea hepatocitelor este fie uşoară şi reversibilă, fie masivă, cu evoluţie rapidă, fatală. Leziunile parenchimatoase sunt de tip necroză, steatoză (încărcare grasă) şi colestază (reducerea sau oprirea secretiei fluxului biliar), iar leziunea mezenchimului (ţesut conjunctiv embrionar) constă în scleroză (boală care se manifestă prin modificarea structurii normale a unui organ sau a unui ţesut, din cauza proliferării ţesutului conjunctiv pe care îl conţine).

În funcţie de durata şi de intensitatea expunerii la toxic, precum şi de sensibilitatea individuală, afectarea ficatului se exprimă prin: atrofie galbenă acută (hepatonecroză întinsă, ireversibilă), hepatită acută (hepatonecroză limitată cu regenerare în timp), hepatită subacută sau cronică (hepatonecroză progresivă, cu reparaţie mezenchimală), ciroză (scleroză întinsă, cu sfârşit letal).

Rinichiul este afectat de acei toxici şi/sau metaboliţi care se elimină în principal la acest nivel. Lezarea se produce prin mecanism direct sau alergic sau ca o consecinţă a hipoxiei din starea de şoc:

- Nefropatia acută tubulară toxică se produce prin acţiunea nefrotoxică directă. Porţiunea cea mai sensibilă este tubul contort proximal (unde au loc concentrarea şi reabsorbţia), afectarea exprimându-se prin procese degenerative de diferite grade. Leziunile nefrotice sunt însoţite, într-o intoxicaţie gravă, de leziuni determinate de ischemie (deficit circulator local). Tabloul clinic este de insuficienţă renală acută toxică;

- Rinichiul în stare de şoc este consecinţa acţiunii toxice indirecte, când în cadrul şocului toxic, alături de alte organe şi sisteme, este afectat şi rinichiul, datorită anoxiei ischemice, cu instalarea oliguriei (anuriei). Dacă ischemia este prelungită, diureza nu este reluată după înlăturarea stării de şoc a intoxicatului şi apare sindromul de insuficienţă renală acută toxică;

- Nefropatia cronică, profesională sau medicamentoasă, poate fi primar sau secundar cronică când rezultă din evoluţia unei nefropatii acute.

Aparatul digestiv este afectat de majoritatea substanţelor toxice introduse pe cale orală. Aceştia acţionează fie direct asupra diferitelor structuri, fie

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

indirect, prin intermediul sistemului nervos central sau vegetativ sau al unor reacţii imunoalergice. Leziunile organice sau funcţionale sunt exprimate prin diferite manifestări.

Sângele şi măduva hematogenă pot fi afectate de toxicii care provoacă hemopatii induse prin atacarea măduvei hematogene (hemopatii mielotoxice sau imunopatogene), hemopatii induse prin afectarea elementelor sângelui circulant, hemopatii induse prin combinarea ambelor mecanisme, acţiunea prevalând fie pe măduvă, fie pe elementele sângelui.

Tulburările hidroelectrolitice şi de echilibru acido-bazic pot fi deosebit de grave în intoxicaţiile severe şi se realizează prin următoarele mecanisme: vărsături şi diaree; hipersudoraţie şi hipersecreţie glandulară; scăderea (abolirea) funcţiei renale; întreruperea aportului oral sau aport exagerat parenteral; formarea de exces de acizi prin metabolizarea toxicului; aport de acizi şi baze exogene (intoxicaţii acute cu acizi şi baze, cu creşterea sau scăderea pH-ului sanguin).

Acţiunea toxică directă este caracteristică unui număr limitat de toxici; aceştia determină inflamaţia sau necroza ţesutului cu care vin în contact: tegumentele (substanţe vezicante, acizi şi baze tari), conjunctivele bulbare (substanţe lacrimogene), mucoasele tractului respirator (gaze iritante), mucoasele bucală, esofagiană şi gastrică (substanţe iritante, caustice, corozive etc.).

Acţiunea substanţelor toxice la nivel celular

Membrana celulară menţine constantă compoziţia mediului intern; acesta reglează pătrunderea şi eliminarea substanţelor atât spre interior, cât şi spre exterior. Toxicul poate influenţa fluxul ionic prin membrană, prin micşorarea canalelor ionice, când are loc stabilizarea membranei şi blocarea impulsului nervos prin întreruperea fluxului ionic (ca în cazul cocainei). Deoarece există canale separate pentru Na^+ şi pentru K^+, unii toxici (cum ar fi tetrodoxina) blochează fluxul de sodiu, iar alţii (clorura de tetraetilamoniu), fluxul de potasiu.

De asemenea, unii toxici (DDT, alcaloizii din veratrum) favorizează lărgirea canalelor ionice, caz în care se produce labilizarea membranei. Totodată, printr-o acţiune anti-ATP-azică (ouabaina) se produce inhibarea pompei cationice.

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Nucleul este afectat de toxici prin:

- inhibarea precursorilor acizilor nucleici;
- încorporarea în acizii nucleici;
- legarea covalentă cu acizii nucleici;
- formarea complecşilor reversibili cu ADN;
- interferarea substanţelor toxice cu ADN- şi ARN-polimeraza.

Inhibarea precursorilor acizilor nucleici este realizată de antagoniştii acidului folic şi de antimetaboliţii bazelor purinice (adenina, guanina, hipoxantina, xantina) sau pirimidinice (uracilul, citozina, timina) care, deşi analogi chimici ai acestor baze, formează compuşi inutilizabili de către celulă. Astfel, 6-tiopurina, analog chimic al hipoxantinei, împiedică intrarea acesteia în celulă, deoarece hipoxantina formează acid inozinic, în timp ce 6-tiopurina sintetizează acid tioinozinic, respins de celulă. Asemănător acţionează şi 5-fluorouracilul, care este analogul chimic al uracilului.

6-Tioguanina, inhibă biosinteza acizilor nucleici, dar se poate încorpora în aceştia în locul bazelor naturale.

Legătura covalentă a unor toxici cu acizii nucleici se formează, de pildă, în cazul substanţelor antitumorale şi a celor cancerigene.

Complecşi reversibili cu ADN pot forma LSD, în timp ce unele antibiotice (antracilina, rubidomicina) pot afecta replicarea şi transcrierea; legăturile fiind electrostatice, modificarea pH-ului mediului determină desfacerea complecşilor de acest tip.

Interferenţa cu ADN- şi ARN-polimeraza a fost descrisă în cazul sarcomicinei care inhibă ADN-polimeraza, blocându-i grupările -SH sau ale rifamicinei şi rifampicinei, care inhibă ARN-polimeraza microorganismelor sau procariotelor (nu şi la mamifere), fapt pe care se bazează utilizarea lor clinică.

Mitocondriile sunt sediul lanţului respirator (transportul de electroni) şi al cuplării acestui proces cu fosforilarea oxidativă, având ca rezultat sinteza de ATP. Transportul electronilor este de asemenea cuplat cu ciclul Krebs sau ciclul acidului tricarboxilic ce produce formele reduse $NADH+H^+$ şi, respectiv, $FADH_2$, din moleculele oxidate, NAD^+ şi respectiv, FAD. Acţiunea substanţelor toxice poate avea loc astfel la următoarele niveluri:

- ciclul Krebs este blocat de diferiţi toxici (inhibitori) la oricare dintre secvenţele sale; astfel, acidul fluoracetic realizează „sinteza letală", unele

BCU "CAROL I" CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

fenotiazine inhibă dehidrogenazele NAD-dependente, cu oprirea ciclului la nivelurile respective;

- lanţul respirator poate fi blocat prin inhibarea activităţii flavinnucleotidelor (barbiturice, unele fenotiazine), a citocromilor (CN^-, H_2S, actinomicină), a coenzimei Q (dicumarinice) etc.;

- sinteza ATP-ului este micşorată de unele xenobiotice (CCl_4, tetracicline, digitalice); alţi toxici împiedică fosforilarea oxidativă prin acţiune mixtă asupra lanţului respirator şi sintezei ATP; decuplarea transportului de electroni de fosforilarea oxidativă este modul de acţiune al dinitrofenolilor;

- modificarea permeabilităţii membranei mitocondriale are loc prin diferite mecanisme (de pildă, prin interacţiune cu grupările chimice SH);

- sinteza proteinelor mitocondriale poate fi influenţată prin inhibarea unor procese biochimice (actinomicina D blochează ARN-polimeraza) sau prin activarea acestor procese (hormonul tiroidian stimulează captarea unor aminoacizi).

Reticulul endoplasmatic este format din membrane de separare aranjate într-un sistem de canalicule care ating nucleul şi înconjoară mitocondriile. Unele porţiuni ale reticulului endoplasmatic sunt netede (REN), în timp ce altele poartă granule de ribozomi (reticul endoplasmatic rugos, RER). Reticulul endoplasmatic are rolul de a concentra şi a transporta proteinele sintetizate de ribozomi. Prin centrifugare diferenţiată se obţin fragmente de RER bogate în fosfolipide şi în ribozomi, şi de REN, denumite microzomi, în care se găsesc manjoritatea enzimelor OFMM (oxidaze cu funcţii mixte microzomiale).

Principalele mecanisme de acţiune a substanţelor toxice asupra reticulului endoplasmatic sunt:

- modificarea structurii reticulului prin scăderea sintezei lipoproteinelor, consecinţă a scăderii sintezei ATP-ului în mitocondrii. De pildă, tetraciclinele determină steatoză hepatică, cu vacuolizarea reticulului endoplasmatic şi creşterea cantităţii de membrane netede (REN), concomitent cu scăderea cantităţii de membrane rugoase (RER). Tetraclorura de carbon determină dilatarea RER, cu desprinderea ribozomilor şi scăderea sintezei proteice;

- hipertrofia reticulului prin stimularea activităţii OFMM ca urmare a inducţiei enzimatice

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

- inhibiţia directă a enzimelor (novobiocina inhibă glucuronil-transferaza hepatică, cu eliberare de bilirubină şi apariţia hepatitei toxice);

Ribozomii sunt granulele dispuse de-a lungul reticulului endoplasmatic şi reprezintă locul de sinteză a proteinelor după modelul înscris în ARN-ul mesager. Sinteza proteică poate fi afectată de unii toxici. Astfel, purotonina, un antitumoral asemănător structural cuporţiunea din ARN de transfer (ARN_t) la care se fixează aminoacizii activaţi (aminoacil-ARN_t). Puromicina poate forma o legătură peptidică cu un aminoacid anterior legat de lanţul peptidic (prin gruparea $-NH_2$), însă împiedică legarea aminoacidului următor, oprind creşterea lanţului peptidic.

Lizozomii, cu rol în activitatea digestivă a celulei, pot fi afectaţi de toxici prin următoarele mecanisme:

- Afectarea permeabilităţii membranelor: lizozomii conţin enzime hidrolitice cu pH optim acid care, în mod obişnuit, sunt separate de substratele lor din citoplasmă prin membrana fosfolipidică a lizozomilor. Dacă permeabilitatea membranară este uşor afectată, se produc dereglări în trecerea apei şi a electroliţilor. În cazul în care alterarea este profundă sau membrana ruptă, enzimele hidrolitice sunt eliberate şi atacă constituenţii celulari de bază (nucleotide, proteine, lipide, glucide). În final, se produce dereglarea organitelor celulare (mitocondrii şi reticul endoplasmatic), urmată de citoliză.

Principala cauză a modificării permeabilităţii membranare este anoxia, iar aceasta este consecinţa dereglării respiraţiei celulare şi a producerii de energie. Modificarea permeabilităţii membranare este produsă de hepatotoxici (CCl_4), sulfat de streptomicină, digitalice, dinitro-*orto*-crezol (DNOC) etc.;

- Intervenţia în fagocitoză, de pildă, cu formare de vacuole;
- Modificarea reacţiilor din interiorul lizozomilor, ca în cazul detergenţilor neionici.

Acţiunea substanţelor toxice la nivel molecular

O mare parte dintre efectele toxice sunt consecinţa inhibiţiei enzimatice. Aceasta poate fi:

- competitivă, când inhibitorii, fiind analogi chimici ai substratului, intră în competiţie cu acesta pentru ocuparea centrilor activi ai enzimei, formând

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

complexul inhibitor-enzimă. Cu cât concentraţia substratului este mai mare, cu atât capacitatea inhibitorului de a forma complexul cu enzima este mai mică;

- necompetitivă, când inhibitorii nu au structură analogă substratului, deci nu concurează pentru centrii activi enzimatici, iar concentraţia substratului nu influenţează efectul inhibitorilor. Există inhibitori necompetitivi reversibili, care induc doar o încetinire a reacţiei enzimatice, şi inhibitori necompetitivi repetitivi ireversibili, care determină inactivarea enzimei.

Untip aparte de competiţie enzimatică este competiţia alosterică, cu rol important în reglarea activităţii enzimatice. Numeroase enzime posedă doi centri capabili să fixeze substanţele: un centru izosteric (activ) care leagă substratul şi compuşii înrudiţi structural, realizând cataliza; un centru alosteric, care leagă compuşii diferiţi structural de substrat, cu rol de inhibitori sau activatori. Fixarea unui inhibitor (de exemplu citratul din ciclul Krebs pe centrul alosteric al fosfokinazei) determină modificări conformaţionale ale enzimei la nivelul centrului activ, scăzându-i afinitatea faţă de substrat, cu limitarea vitezei de reacţie (în exemplul dat, a glicolizei).

Principalele mecanisme din interacţiunea toxic-enzimă sunt:

- denaturarea protein-enzimei (apoenzimei), de către acizi şi baze tari, fenol, formaldehidă, metale grele;

- blocarea grupărilor reactivate ale apoenzimei (-SH, -OH, $-NH_2$, -COOH); de exemplu, grupările –SH sunt blocate de agenţi oxidanţi (fericianură), compuşi de arsen, metale grele (Pb, Hg), agenţi alchilanţi (iodacetat, iodacetamidă);

- modificarea conformaţională a enzimei: anumiţi toxici îngustează, de exemplu, la alcooldehidrogenază, calea de acces a etanolului spre centrul activ;

- competiţia cu gruparea prostetică: CN^- complexează Fe^{3+} din citocromoxidază;

- competiţia cu coenzima: acidul piridin-3-sulfonic şi acetil-3-piridina acţionează ca antimetaboliţi ai nicotinamidei din compoziţia coenzimelor NAD^+ şi $NADP^+$;

- complexarea metalului activator: ionul de fluor complexează Mg^{2+} din enolază; sulfura de carbon, disulfiramul, ditiocarbamaţii complexează Cu^{2+} din citocromoxidază, aldehiddehidrogenază, monoaminooxidază, tirozinază şi Zn^{2+} din anhidrida carbonică, lactat dehidrogenază, alcooldehidrogenază; chelatanţii

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

(de exemplu sărurile acidului etilendiaminotetraacetic — EDTA) spoliază organismul de unele metalele bivalente proprii;

- Competiţia cu substratul;
- Sustragerea substratului (H_3AsO_3 reacţionează cu gliceraldehida cu formare de acid fosfoarsenogliceric, cu privarea, în etapa următoare a glicolizei, de acid difosfogliceric, substratul normal).

Sinteza letală este procesul prin care o substanţă exogenă netoxică este transformată în organism într-una toxică. Este cazul fluoracetatului care *invitro* nu este toxic pentru enzimele ciclului Krebs; *in vivo,* din fluoracetat activ şi oxaloacetat se sintetizează fluorocitratul. Acesta inhibă aconitaza (enzima din etapa citrat-oxaloacetat), blocând ciclul Krebs. Ca urmare a leziunii biochimice la acest nivel, organismul este privat de energie, iar citratul se acumulează în ţesuturi, unde leagă Ca^{2+}, spoliind organismul de acest element.

Alterarea metabolismului celular. Unii antimetaboliţi, fiind analogi chimici ai metabolitului normal, acţionează prin înlocuirea acestuia, determinând fie oprirea reacţiei, fie formarea unui nou metabolit care încetineşte sau opreşte reacţia următoare din lanţul metabolic. De pildă, sulfanilamida se substituie în bacterii acidului *p*-aminobenzoic, împiedicând sinteza acidului folic; dicumarolul se substituie vitaminei K, determinând hemoragii; acidul piridin-3-sulfonic înlocuieşte nicotinamida din NAD^+ şi $NADP^+$ şi, de asemenea, carenţează organismul în nicotinamidă; etionina, analog metioninei, induce o leziune biochimică prin formarea S-adenozil-etioninei în locul S-adenozil-metioninei, cu implicaţii în procesele de metilare şi sinteză proteică; 6-tiopurina şi 5-fluorouracilul interferează cu bazele normale ale acizilor nucleici, realizând o „încorporare letală" etc.

Efectele nocive asupra acizilor nucleici. Bazele azotate conţin perechi de electroni neparticipanţi şi pot accepta structuri electrofile. Cancerigenii sunt substanţe cu structură foarte variată, însă majoritatea lor sunt reactanţi electrofili. Unii cancerigeni şi agenţi antitumorali (ionii metalici, agenţii alchilanţi) sunt electrofili *per se.* Alţii, hidrocarburile policiclice condensate, nitrozaminele, aminele aromatice policiclice sunt de fapt precancerigeni şi necesită o prealabilă activare metabolică când se formează precursori cancerigeni şi în final metabolitul ultim, cancerigen, puternic electrofil. Acesta se poate detoxifica prin metabolizare sau se poate fixa covalent pe ADN, macromolecula ţintă, sau pe

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

alte molecule proteice. Alţi cancerigeni determină perturbări în proprietăţile ADN-ului fără intervenţia legăturii covalente, prin simplă intercalare în dubla elice a acestuia.

Interacţiunea xenobiotic-receptor. Receptorii farmacologici sunt formaţiuni infrastructurale ale celulei, având proprietatea de a lega, mai mult sau mai puţin specific, anumite molecule endogene şi exogene (medicamente şi toxici). Majoritatea receptorilor sunt porţiuni ale membranei. Alţii se găsesc în citoplasmă sau în subunităţi ale unei molecule de enzimă.

Inhibitorul (toxic, agent chimioterapeutic) are afinitate pentru receptor cu care poate forma un complex.

*Interferenţa în neurotransmisie*poate avea loc prin diferite mecanisme şi la diverse niveluri ale sistemului nervos, datorită: agenţilor blocanţi ai receptorilor colinergici sau adrenergici la sinapsele interneuronale sau la joncţiunile neuroefectoare; unor inhibitori ai sintezei şi eliberării neurotransmiţătorilor; unor substituienţi ai neurotransmiţătorilor, cu acţiune proprie colinergică sau adrenergică.

*Efectele toxice asupra transportului, difuzării şi utilizării oxigenului,*ca şi asupra stocării energiei:

- *blocarea transportului de oxigen*: monoxidul de carbon, CO, intră în competiţie cu O_2 pentru hemoglobină, Hb şi formează carboxihemoglobina, blocând transportul de oxigen la ţesuturi. Nitriţii, nitro- şi aminoderivaţii aromatici, precum şi alte methemoglobinizante transformă Hb (Fe^{2+}) în MetHb (Fe^{3+}) care nu transportă oxigenul. Totuşi, mici cantităţi de MetHb sunt reduse la Hb în hematii. Dacă MetHb este în cantitate mare sau în cazul unui deficit de glucozo-6-fosfat-dehidrogenază, nu se mai realizează reducerea spontană. Sulfonamidele în prezenţa methemoglobinizantelor transformă Hb în sulfhemoglobină, netransportoare de oxigen. Derivaţii de hidrazină lezează membrana eritrocitară cu eliberarea Hb din eritrocit (hemoliză), iar hemoglobina plasmatică nu transportă oxigenul;

- *împiedicarea difuzării oxigenului*: unii anestezici (eter, halotan) şi solvenţi organici nepolari se acumulează în lipidele membranare şi împiedică difuzarea oxigenului şi a glucozei în interiorul celulei. Neuronul este deosebit de afectat de absenţa acestor substanţe;

BCU CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

- *împiedicarea utilizării oxigenului*: cianurile complexează Fe^{3+} din citocromoxidază; tranferul de electroni pe lanţul mitocondrial poate fi blocat la diferite nivele; acidul fluoracetic blochează ciclul Krebs la nivelul aconitazei;

- *risipirea energiei sub formă de căldură*: dinitrofenolul şi dinitro-*orto*-crezolul produc decuplarea fosforilării oxidative de respiraţie, care presupune utilizarea eficientă a oxigenului, iar energia nu se mai acumulează în fosfaţii macroergici (ATP) pentru a fi apoi utilizată de celule, ci se pierde sub formă de căldură.

Antagonismul între ioni: Cd^{2+} este antagonistul Zn^{2+} şi Cu^{2+}, probabil prin competiţie pentru situsurile de transport.

Inducerea reacţiilor de sensibilizare:unii toxici (izocianaţi, formaldehidă, anhidridă ftalică etc.) şi medicamente (antibiotice, sulfamide, antipiretice-analgezice etc.) induc sensibilizare datorită proprietăţii de a juca rol de haptenă. Aceasta se uneşte în organism cu o macromoleculă, realizând antigene care determină, ca răspuns, sinteză de anticorpi.

Factori determinanţi ai toxicităţii

Toxicitatea unei substanţe depinde de doza, destructura chimică, de puritatea, modul de administrare şi de interacţiunile sale cu alţi compuşi (Tabelul 1).

Structura chimică. Grupările chimice conferă caracterul hidro- sau liposolubil şi, deci, şi implicit tipul de acţiune biologică. Grupările toxofore: =C=, =S, $-NO_2$, —N=C<, —CN, ≡P<, asemănătoare grupărilor cromofore din coloranţi, sunt responsabile de toxicitate, iar grupările autotoxe (halogeni, oxizi inferiori, $-NH_2$,>C=C<,$-C_6H_5$, $-C_6H_4$, $-CH_2-$), asemănătoare grupelor auxocrome, intensifică acţiunea toxică.

Stereoizomeria determină variaţii în intensitatea şi tipul de acţiune toxică, datorită faptului că substanţele biologic active reacţionează cu receptorii (enzimele) care, de regulă sunt substanţe optic active. Asemănarea sau diferenţierea în structura izomerilor optici dirijează formarea legăturilor toxic-receptor. Izomerii geometrici pot determina de asemenea variaţii ale intensităţii legăturii toxic-receptor datorită distanţei dintre grupările reactive, conformaţiei etc.

„Activitatea" electronică (distribuţia şi conformaţia electronică în moleculă) influenţează toxicitatea. Se consideră că electronii π de valenţă sunt activi din punct de vedere biologic. Densitatea electronică inegală în diferite

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

puncte ale moleculei îi conferă polaritate şi centri de maximă densitate electronică. Aceste conformaţii electronice determină un anumit tip de activitate. Totuşi, până în prezent relaţia structură-toxicitate nu a putut fi prezentată ca o legitate. Practic, legitatea poate fi găsită pentru o serie limitată, cum ar fi proporţionalitatea între atomii de clor dintr-o moleculă şi efectul toxic.

Proprietăţile fizico-chimice ale substanţelor toxice. Starea de agregare influenţează pătrunderea substanţelor toxice în organism; toxicii gazoşi acţionează rapid şi intens când pătrund pe cale respiratorie. Masa moleculară mare şi gradul mic de dispersie influenţează negativ viteza de absorbţie. De pildă, forma amorfă asigură o dizolvare şi o absorbţie mai rapidă decât forma cristalină pentru aceeaşi substanţă (de exemplu morfină, stricnină şi novocaină). Substanţele sunt uneori active numai în formă amorfă, deoarece hidroliza la nivel gastrointestinal nu afectează forma cristalină, încât substanţa nu poate fi absorbită (de exemplu stearatul şi palmitatul de cloramfenicol). Polimorfismul are implicaţii în cinetica substanţelor toxice, deoarece structura cristalină imprimă stabilitate sau instabilitate termodinamică formei respective. Forma cristalină stabilă prezintă solubilitate redusă, punct de topire crescut şi stabilitate chimică crescută, întârziind absorbţia.

Substanţele cu volatilitate crescută prezintă un risc mai mare deintoxicare.

Hidro- şi liposolubilitatea, ca şi raportul lipo/hidrosolubilitate influenţează cinetica absorbţiei. O substanţă insolubilă nu poate fi absorbită. Dizolvarea este condiţionată, în primul rând de lipofilie (dependentă de grupările chimice) deoarece membrana de traversat este lipoidică, iar molecula trebuie să se dizolve în ea. În plus, după depăşirea membranei, molecula difuzează în apa protoplasmatică, apoi în apa extracelulară, încât trebuie să posede o anumită hidrofilie. De aceea, moleculele cu un coeficient mediu de repartiţie lipide/apă (coeficient Owerton-Meyer) sunt cel mai bine absorbite.

În cazul pătrunderii pe *cale respiratorie*, când hidrosolubilitatea este mare (coeficientul lipide/apă este mic), cum este cazul alcoolului, organismul are o capacitate de absorbţie mare. Saturarea organismului şi eliminarea pulmonară au loc lent, ceea ce conduce la intoxicaţii în timp, prin acumulare. Din contra, atunci când hidrosolubilitatea este mică (coeficientul lipide/apă este mare), cum este cazul benzenului, saturarea organismului şi eliminarea pulmonară au loc mai rapid, ceea ce determină intoxicaţii acute.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

În cazul pătrunderii *transcutanate*, riscul intoxicaţiei depinde deopotrivă de liposolubilitate şi de hidrosolubilitate. De aceea, unele substanţe cu coeficientul lipide/apă mediu, cum ar fi eterul, prezintă un risc cutanat crescut.

Calea digestivă este aplicabilă atât substanţelor hidrosolubile, cât şi celor liposolubile. Absorbţia substanţelor disociabile este influenţată de pH-ul segmentului digestiv respectiv.

Ionizarea (constanta de aciditate). Acizii slabi (barbituric, salicilic), neionizabili în mediu acid, sunt absorbiţi în stomac, pe când bazele slabe (alcaloizi, amfetamină, imipramină), puternic ionizate în mediu acid, sunt absorbite în duoden, al cărui mediu este alcalin.

Puritatea, şi concentraţia. Impurităţile pot influenţa acţiunea toxică. Conservarea necorespunzătoare este capabilă să modifice toxicitatea (acizii păstraţi în recipiente de plumb, dizolvă metalul devenind toxici). Perioada de recoltare, aria geografică, condiţiile meteorologice influenţează conţinutul în principii active al plantelor. Operaţiile de spălare, de fierbere etc., pot micşora toxicitatea ciupercilor. Concentraţia din produs determină, de regulă, creşterea toxicităţii; în unele cazuri însă concentraţiile mari micşorează permeabilitatea mucoasei reducând apreciabil absorbţia toxicului la acel nivel (de exemplu HCl conc).

Calea şi viteza de administrare. Calea de administrare influenţează intensitatea acţiunii toxice, perioada de latenţă până la apariţia efectului toxic, precum şi durata acţiunii toxice. De asemenea, poate fi modificat tipul de acţiune ($MgSO_4$ administrat oral este purgativ, iar parenteral, este deprimant al SNC). În raport cu calea de administrare, absorbţia se realizează cu viteze diferite şi poate interveni sau nu detoxifierea hepatică înaintea pătrunderii toxicului în circulaţia generală. Toxicitatea este influenţată, de asemenea, de viteza de administrare a toxicului.

Interacţiuni. Două sau mai multe xenobiotice interacţionează între ele sau cu anumiţi constituenţi ai alimentelor. Efectul interacţiunii poate fi:

A. *Sinergic*, când cele două substanţe au acelaşi sens de acţiune. Dacă suma efectelor este egală sau mai mică decât efectele celor două substanţe considerate separat (de exemplu bromuri alcaline) se obţine o *sumare* sau o *adiţie.* Dacă suma lor este mai mare, efectul reprezintă o *potenţare* (barbiturice + etanol, morfină + amfetamină).

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

B. *Indiferent*, în cazul în care acţiunea celor două substanţe se desfăşoară independent una de alta, fără a interacţiona între ele.

C. *Antagonic*, când acţiunea celor două substanţe are sens contrar, rezultând un efect global micşorat, nul sau inversat (de pildă, anticolinergice + morfină, antiparkinsoniene + fenotiazine etc.).

Nivelul interacţiunii poate fi oricare din fazele cineticii şi de asemenea faza dinamică.

Mecanismele de interacţiune cinetică între xenobiotice, potrivit luiSellers, ar fi următoarele:

Absorbţia:

- modificări fizico-chimice în tubul digestiv;
- variaţii ale motilităţii gastrointestinale;
- leziuni ale mucoaselor gastrointestinale.

Fixarea pe proteine

- fixarea pe proteine plasmatice;
- fixarea pe receptorii tisulari.

Distribuţia

Metabolizarea

- inducţia enzimatică;
- inhibiţia enzimatică.

Eliminarea

- interferenţe în transport la nivelul tubilor urinifer;
- interferenţe în procesele de conjugare biliară sau de transport.

Absorbţia poate fi stimulată sau inhibată la administrarea orală a două sau mai multe xenobiotice, prin:

- modificări fizico-chimice în tubul digestiv, datorate: variaţiei pH-ului gastric sau intestinal (substanţele antiacide scad absorbţia substanţelor acide); chelatării sau complexării cu întârzierea absorbţiei(sărurile metalelor grele + agenţi chelanţi, săruri de calciu, magneziu, fier, aluminiu + tetracicline); neutralizării reciproce (heparină + protamină);

- variaţii ale motilităţii gastrointestinale: laxativele şi colinergicele, crescând peristaltismul, reduc absorbţia riboflavinei, care are loc predominant în porţiunea superioară a intestinului subţire (sediul principal al absorbţiei) şi

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

facilitează absorbţia vitaminei B_{12} din ileon; anticolinergicele, scăzând peristaltismul, produc efecte inverse în absorbţia riboflavinei şi vitaminei B_{12}

- leziuni ale mucoaselor gastrointestinale sunt observate în cazul substanţelor corozive, caustice, a colchicinei, a neomicinei etc.

Fixarea pe proteine (*plasmatice* sau *receptori tisulari*) poate fi modificată prin două mecanisme:

Competiţia pentru proteinele plasmatice (în timpul transportului sau al depozitării) are loc pentru situsurile proteinelor, între două substanţe, ambele cu afinitate pentru acestea. Substanţele cu afinitatea cea mai mare (cu caracter acid, ca fenilbutazona, acidul tricloracetic sau bazic, ca imipramina, difenilhidantoina) ocupă locul celeilalte substanţe. Aceasta, împiedicată să se fixeze,rămasă liberă, se echilibrează la locul acţiunii la un nivel mai ridicat, rezultând potenţare. Astfel, warfarina se fixează pe proteinele plasmatice în proporţie de 97%, rămânând liberă numai 3%; dacă o substanţă competitivă deplasează din fracţiunea fixată încă 3%, concentraţia formei libere se dublează, crescând în mod periculos cantitatea de protrombină la subiecţii trataţi cronic cu anticoagulante. Alt dezavantaj al deplasării competitive este încărcarea ficatului (care metabolizează fracţiunea rămasă liberă) şi a rinichiului (care o filtrează glomerular). Prin creşterea metabolismului şi a clearance-ului renal, rezultă o perioadă plasmatică redusă şi o scădere progresivă a concentraţiei plasmatice totale a substanţei până în momentul când concentraţia plasmatică liberă atinge nivelul avut anterior administrării substanţei competitive pentru proteinele plasmatice. Starea de echilibru care se stabileşte acum se caracterizează printr-o concentraţie plasmatică totală inferioară, o concentraţie a fracţiunii libere egală şi un nivel de activitate egal cu acelea anterioare interacţiunii cu substanţa competitivă. Deşi dezechilibrul determinat de competiţia pentru proteinele plasmatice este doar tranzitoriu, totuşi, în cazul potenţării, efectele inhibiţiei parţiale a fixării pe proteine pot fi deosebit de grave.

Competiţia pentru receptorii tisulari (sau centrii activi) determină modificări în structura terţiară a proteinei (cu reducerea numărului centrilor de fixare) dacă unele substanţe, împiedicate să se fixeze pe proteina specifică, se fixează pe alţi centri.

Distribuţia substanţelor în cele trei compartimente hidrice poate suferi modificări. Modificarea pH-ului (rezultat al proceselor metabolice sau al acţiunii

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

xenobioticelor) nu este uniformă în compartimentele extra- şi intracelular. Ca urmare, datorită difuziei neionice se produce o trecere selectivă a xenobioticelor dintr-un compartiment într-altul. Astfel, substanţa se acumulează în compartimentul cu pH mai alcalin şi invers. Au loc modificări ale concentraţiei plasmatice şi tisulare ale xenobioticelor, fără ca aceste modificări să se repercuteze asupra absorbţiei sau eliminării (de exemplu, fenobarbitalul, cu acţiune intracelulară, pierde din activitatea sa în prezenţa bicarbonatului de sodiu, realizând o concentraţie plasmatică mai mare).

Metabolizarea: prin unele asocieri de xenobiotice se poate determina creşterea sau scăderea ratei de metabolizare (cu toate consecinţele sale pentru toxicitate) prin fenomenul de inducţie sau de inhibiţie enzimatică.

Inducţia enzimatică reprezintă accelerarea metabolizării xenobioticelor ca urmare a stimulării sintezei şi activităţii enzimelor microzomiale. Inducţia are loc în cazul hipnoticelor, sedativelor, narcoticelor, stimulanţilor SNC, analgezicelor-antipireticelor, etanolului, unor pesticide, substanţelor cancerigene etc.

Inhibiţia enzimatică este fenomenul invers inducţiei şi este observată la iproniazidă, catron, nialamină, cloramfenicol, compuşi organofosforici, ozon, tetraclorură de carbon.

Eliminarea este accelerată sau întârziată prin:

- competiţia pentru folosirea aceleaşi căi (penicilina şi probenecidul folosesc, ambele, transportul activ tubular, rezultând întârzierea eliminării penicilinei, cu prelungirea activităţii sale);
- alcalinizarea sau acidifierea urinei (alcalinizarea întârzie eliminarea penicilinei, cu prelungirea activităţii sale);
- alcalinizarea sau acidifierea urinei (alcalinizanţii ionizează barbituricii, sulfamidele, salicilaţii, împiedicându-le reabsorbţia şi accelerându-le eliminarea; dimpotrivă, acidifianţii grăbesc eliminarea amfetaminei, imipraminei, antipirinei, bazelor purinice).

Faza toxicodinamică: interacţiunile pot avea loc şi în aceeaşi fază, la nivelul unor receptori. Astfel, nalorfina intră în competiţie cu morfina la nivelul receptorilor celulari; alcoolul şi barbituricele se potenţează pentru că acţionează la acelaşi nivel; diureticele determină scăderea ionilor de potasiu, potenţând acţiunea curarizantelor etc.

Pericolul asocierii xenobioticelor constă în: posibilitatea creşterii toxicităţii substanţelor nocive; intensificarea activităţii şi a toxicităţii unor medicamente (în special cu margine îngustă de siguranţă); anularea efectului farmacologic, uneori cu rezultat fatal, ca în cazul coagulantelor.

Factori dependenţi de organism

Specia. Există diferenţe calitative şi cantitative în efectul toxic între speciile animale, ca şi între animal şi om: talidomida este teratogenă la om şi la iepure, dar nu la hamster; toxicitatea alfanaftilureei este de peste 500 de ori mai mare la maimuţă decât la şobolan. Aceste diferenţe prezintă interes pentru interpretarea datelor experimentale şi depind de mai mulţi factori.

Sexul. S-a constatat o mai mare frecvenţă şi intensitate a reacţiilor adverse şi a toxicităţii la unele medicamente şi toxici, la femeie faţă de bărbat. Au fost incriminaţi factori psihosomatici, metabolici (metabolizarea ar fi mai lentă la femeie), hormonali (la animal, diferenţa de toxicitate între sexe a fost observată numai după pubertate sau după castrare).

Vârsta.Fetusul şi *nou-născutul* prezintă o sensibilitate deosebită la numeroase medicamente, în funcţie de mecanismele de acţiune ale acestora. *Vârstnicii* manifestă o frecvenţă crescută a accidentelor terapeutice, datorită mai multor factori (Tabelul 2).

Graviditatea. Placenta este permeabilă pentru unele xenobiotice sau poate interveni direct în biotransformarea lor. Majoritatea xenobioticelor cu masa moleculară, M < 1000 traversează placenta prin transfer activ sau pasiv şi se regăsesc în sângele fetusului. Transferul este maxim între săptămâna a 6-a şi a 20-a de gestaţie.În placentă pot avea loc reacţiile din faza I a metabolizării, însă reacţiile din faza a II-a sunt deficitare din cauza activităţii reduse a glucuronil-transferazei. Factorii responsabili de sensibilitatea embrionului la xenobiotice sunt redaţi în Tabelul 3.

Masa şi suprafaţa corporală. S-a constatat la animal că exemplarele cu masă corporală mică necesită, proporţional, o cantitate mai mare de substanţă pentru a răspunde în acelaşi mod ca animalele cu masă corporală mare (din aceeaşi specie).

Starea psihică. Substanţele biologic active acţionează sinergic cu nivelul stresului.

BCU "CAROL I" CENTRALA UNIVERSITARĂ LIBRARY

Tabelul 1. Factori de care depind diferenţele dintre efectele toxice la diferite specii

Variaţii în absorbţie, distribuţie, eliminare	Variaţii în rata şi calea de metabolizare (ambele fiind funcţie de enzimele de metabolizare	Variaţii în calitatea şi cantitatea receptorilor
— Paraquatul se absoarbe de 20 de ori mai intens la şobolan decât la om; — Sulfatioxazolul se fixează pe proteinele serice în procent de 16% la om şi de 69% la şoarece; — Feniltioureea este de 50 de ori mai puţin toxică la cobai decât la şobolan, deoarece cobaiul este mai puţin sensibil la metabolitul toxic (H_2S), iar eliminarea se realizează în majoritate ca sulfuri metalice neutre şi cu viteză mare	— Hexobarbitalul şi antipirina sunt metabolizate de 3-6 ori mai rapid la şoarece decât la iepure, dar anilina este metabolizată cu aceeaşi rată la ambele specii; — p-clorfentermina nu poate fi hidrolizată la şobolan; — Fenolul nu este conjugat cu acidul glucuronic la pisică; — Amfetamina se hidrolizează preponderent la catena laterală la om şi la unele specii de laborator şi se p-hidroxilează numai la şobolan; — N-acetilaminofluorenul (AAF), precancerigen, este N-hidroxilat la N-hidroxi-AAF, precursor cancerigen la om, şoarece, şobolan, câine, nu şi la cobai	— Histamina se manifestă la cobai prin constricţie bronşică, la câine prin hipotensiune, la om prin ambele efecte; şobolanul este insensibil la histamină, pe când cobaiul sucombă la doze mici

Stările patologice. Afecţiunile renale scad eliminarea substanţelor excretabile preponderent pe cale urinară (antibiotice, digitalice), crescându-le semiviaţa plasmatică; dacă dozele nu sunt reduse, pot apărea efecte toxice. Afecţiunile hepatice determină încetinirea sau insuficienţa metabolizării medicamentelor, rezultând acumularea lor (2-metilaminofluorenul formează derivatul N-hidroxi, cancerigen, într-o rată mai mare la animalele tarate hepatic).

BUMF / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Factorii genetici. Până în prezent evidenţiat mai multe enzimopatii, corelate cu absorbţia unor xenobiotice, de exemplu:

- acetiltransferaza inactivează izoniazida (HIN). Există inactivatori rapizi (care elimină rapid HIN) şi inactivatori lenţi (elimină lent HIN); diferenţa dintre cele două categorii de subiecţi constă în cantitatea de enzimă din ficat – mai mare la inactivatorii rapizi decât la cei lenţi;

- pseudocolinesteraza inactivează, prin hidroliză, succinilcolina; unii subiecţi sunt foarte sensibili la doze de succinilcolină, pentru că plasma lor conţine o variantă anormală de enzimă;

- alcooldehidrogenaza (ADH) este principala enzimă care metabolizează etanolul; s-a decelat la om existenţa izoenzimelor şi a polimorfismului ADH, ceea ce explică, cel puţin parţial, sensibilitatea rasială şi individuală la efectele etanolului;

- monooxidaza transformă benzantracenul (precancerigen) în epoxid (cancerigen); într-un lot reprezentativ s-a găsit că 10 din subiecţi manifestau activitate monooxidazică puternică, fiind deci expuşi la cancer pulmonar datorat acestei hidrocarburi policiclice existente în mediu (fum deţigară, pulbere de asfalt);

- glucozo-6-fosfat dehidrogenaza (G-6-PD) intervine în metabolizarea glucozei pe cale pentozică; deficitul în această enzimă afectează 3% din populaţia globului, dar deficitul rămâne inaparent până la administrarea unor substanţe oxidante (antimalarice, sulfamide, sulfone, analgezice-antipiretice), când calea pentozică este suprasolicitată şi, deoarece desfăşurarea reacţiilor pe această cale este deja deficitară (prin lipsa G-6-PD), apar hemoliză şi methemoglobinemie, cu manifestările clinice corespunzătoare.

Bioritmul. În raport cu durata bioritmurilor faţă de durata zilei, acestea se clasifică în ultradiene (peste 24 ore), circadiene (aproximativ 24 ore) şi infradiene (sub 24 ore). Ritmurile ultradiene se împart, la rândul lor, în săptămânale, lunare, anuale.

Ritmurile ultradiene au fost evidenţiate atât la om cât şi la animal. În general, reacţiile sunt mai rapide şi mai intense în perioada de veghe, când dinamica enzimatică este maximă, corespunzând la o producţie maximă de energie, decât în perioada pasivă (de odihnă şi somn).

Tabelul 2. Factori determinanţi ai frecvenţei crescute a accidentelor toxice la vârstnici (după Heusghem)

Factori ca influenţează (direct sau indirect) fazele cineticii sau dinamica xenobioticelor	Factori care intervin în declanşarea reacţiilor toxice
— Scăderea absorbţiei digestive (din cauza micşorării secreţiilor, a încetinirii transportului activ etc. — Scăderea capacităţii de legare a xenobioticelor (metaboliţilor) de proteinele plasmatice (tisulare), cu creşterea fracţiunii libere; —Scăderea eliminării renale şi biliare; — Scăderea masei celulare active, a cantităţii şi sensibilităţii receptorilor etc.	— Deficienţa echilibrului metabolic şi a reglării neurohormonale; — Dereglarea materialului genetic; — Afectarea sistemului vascular; — Formarea autoanticorpilor faţă de constituenţii celulari (tisulari), intacţi sau dereglaţi etc.

Loturi identice de animale au prezentat letalităţi diferite, în funcţie de ora administrării, pentru unii agenţi fizici (zgomot, radiaţii X etc.) şi chimici (nicotină, stricnină, fenobarbital, acetilcolină, etanol). La om, variaţiile circadiene au fost evidenţiate pentru histamină, salicilat de sodiu, rezerpină, insulină, etanol, lignocaină, clorotiazidă, corticosteroizi etc.

Tabelul 3. Factori determinanţi ai sensibilităţii embrionului la xenobiotice (după Heusghem)

— Predominanţa proceselor de multiplicare şi de diferenţiere celulară
— Imaturitatea enzimelor de biotransformare
— Posibilitatea stimulării enzimelor de biotransformare prin inductori enzimatici administraţi mamei
— Structura chimică a xenobioticelor (metaboliţilor)
— Modul de metabolizare a xenobioticelor
— Stadiul dezvoltării embrionului
— Factori genetici şi fiziopatologici materni

BCU "CAROL I" UNIVERSITY LIBRARY

Factori dependenţi de mediu. Alimentaţia, condiţiile de confort, temperatura, presiunea atmosferică, zgomotul, radiaţiile ionizante, poluanţii din mediu, fumatul etc. au, de asemenea, efecte certe asupra toxicităţii.

Combaterea efectelor toxice

Profilaxia intoxicaţiilor. Prin aplicarea măsurilor tehnico-organizatorice şi igienico-sanitare de profilaxie colectivă şi individuală se pot reduce numărul şi gravitatea intoxicaţiilor profesionale. Acestea prevăd:

- înlocuirea, acolo unde este posibil, a substanţelor toxice şi/sau modificarea proceselor tehnologice nocive;
- legiferarea manipulării substanţelor nocive;
- educaţia sanitară şi instructajele periodice de protecţia muncii;
- folosirea tehnologiilor de fabricare în instalaţii ermetice şi etanşe, a ventilaţiei adecvate (naturală şi mecanică), a semnalizatoarelor de alarmă la depăşirea CMA etc.;
- supravegherea medicală a muncitorilor prin: examen medical la angajare şi depistarea unor predispoziţii la intoxicaţii, înlăturând acele persoane de la locurile de muncă cu noxe şi reducând incidenţa intoxicaţiilor profesionale (profilaxie primară); examen medical periodic şi examene speciale, când se depistează intoxicaţiile în stadiu incipient, luând măsuri pentru evitarea agravării lor;
- examinarea toxicologică prin determinări ale substanţelor toxice din atmosfera de lucru, ale substanţelor toxice şi metaboliţilor din lichidele biologice, ale indicatorilor biologici modificaţi sub acţiunea substanţelor toxice; scopul final este stabilirea măsurilor necesare pentru scăderea concentraţiilor substanţelor toxice sub limita admisă;
- izolarea muncitorilor de mediul toxic (când trebuie lucrat într-un astfel de mediu) prin profilaxie individuală: echipament de protecţie şi mască, aplicarea de unguente de protecţie, respectarea igienei individuale etc.

Tratamentul intoxicaţiilor acute (măsuri de prim ajutor). Primele măsuri se referă la reanimarea respiratorie. Imediat după evacuarea din mediul toxic, dacă intoxicatul prezintă respiraţie anormală, culoare neobişnuită a tegumentelor (roşie deschisă, albastră, cianotică), tulburări psihice, se trece, chiar la locul

accidentului şi în timpul transportului către o unitate sanitară, la aplicarea măsurilor de prim ajutor, şi anume:

Eliberarea căilor respiratorii superioare se face prin desfacerea îmbrăcămintei de la gât, îndepărtarea eventualilor corpi străini din gură (proteze), ştergerea cavităţii bucale, aspirarea mucozităţilor. Pentru păstrarea căilor aeriene libere se menţine gura intoxicatului întredeschisă pe tot timpul transportului, iar la intoxicatul inconştient se asigură poziţia de decubit lateral cu ajutorul unei pături făcute sul, ceea ce permite scurgerea lichidelor de secreţie şi previne inhalarea de mucozităţi etc.

Respiraţia artificială se aplică dacă respiraţia nu revine la normal şi se practică prin procedeele „gură la gură" sau „gură la nas" (nu se aplică în intoxicaţiile cu HCN, CN^-, gaze toxice, compuşi organofosforici). Intoxicatul va fi plasat în poziţie de decubit dorsal, întins pe un plan orizontal dur, cu capul în hiperextensie (cu ajutorul unui sul aşezat sub cap).

Oxigenoterapia, aplicată atât în cursul respiraţiei spontane, cât şi a celei artificiale, se practică de obicei prin sondă nazofaringiană (în intoxicaţia cu monoxid de carbon, CO, este indicată oxigenoterapia hiperbară).

Îndepărtarea substanţelor toxice neabsorbite. Provocarea de vărsături se aplică în lipsa posibilităţii efectuării spălăturii gastrice. Se administrează intoxicatului 300 ml apă (o cantitate mai mare ar determina forţareapilorului şi trecerea toxicului în duoden), apoi de declanşează reflexul de vomă prin excitarea mecanică a fundului gâtului. După evacuarea conţinutului gastric se repetă operaţia de câteva ori, cu noi cantităţi de câte 300 ml apă, până la o cantitate totală de 3-4 litri apă. Metoda este contraindicată la intoxicaţii comatoşi, cardiaci, vârstnici hipertensivi şi aterosclerotici, emfizematoşi, gravide şi parţial contraindicată la ingerarea de corozivi şi caustici concentraţi şi în mari cantităţi sau de distilate petroliere şi detergenţi, precum şi la subiecţii la care toxicul ingerat a provocat covulsii. Provocarea vărsăturilor se poate realiza prin aplicare de vomitive ca sirop de ipeca sau apomorfină.

Spălătura gastrică realizează îndepărtarea substanţelor toxice neabsorbite din stomac. Dacă intoxicatul este conştient, se practică spălătura cu apă, suspensie de cărbune activat, cu sau fără antidot, prin sonda Faucher introdusă în stomac pe cale faringo-esofagiană. Dacă intoxicatul este comatos, sonda se introduce pe cale nazală, iar calea aeriană este intubată cu o sondă prevăzută cu

un balonaş obturator, pentru a evita aspirarea conţinutului gastric în căile aeriene şi asfixierea intoxicatului. Porţiunile de lichid de spălătură se păstrează pentru analize toxicologice şi chimico-legale.

Purgativul, de obicei sulfatul de sodiu, este administrat după golirea stomacului prin vărsătură sau spălătură (în acest caz purgativul este introdus prin sondă).

Spălarea tegumentelor are rolul împiedicării absorbţiei toxicului transcutanat. După ce se îndepărtează rapid îmbrăcămintea, se spală tegumentele cu apă şi săpun (15 minute), de preferinţă sub duş.

Spălarea sacului conjunctival se realizează cu apă în jet la presiune mică, timp de 5-10 minute, menţinând pleoapele îndepărtate de globul ocular.

Administrarea antidoturilor. Antidoturile sunt substanţe capabile să inactiveze toxicii prin fenomene fizice sau reacţii chimice (antidoturi chimice sau antidoturi propriu-zise) sau să antagonizeze efectele substanţelor toxice (antidoturi fiziologice sau antagonişti).

Printre însuşirile antidoturilor se pot enumera: acţiunea specifică asupra unui complex funcţional celular; o activitate ridicată; nu determină efecte adverse; nu eliberează, prin biotransformare, metaboliţi toxici; posedă un efect antidotic persistent pentru o perioadă de timp cunoscută. Numărul antidoturilor cu aceste calităţi este restrâns, astfel încât numai 2% dintre intoxicaţiile acute beneficiază de tratament antidotic.

Antidoturile se administrează pe cale orală (înainte, o dată cu, sau după spălătura gastrică), pentru inactivarea substanţelor toxice neabsorbite din tubul digestiv, sau pe cale orală ori parenterală pentru inactivarea substanţelor toxice deja absorbite.

Antidoturile care inactivează toxicii din tubul digestiv acţionează prin:

Absorbţie: cărbunele activat adsoarbe unii toxici organici şi anorganici. Adsorbţia este micşorată sau împiedicată de alimentele din stomac care acoperă porii particolelor de cărbune, dar nu este practic influenţată de pH-ul mediului. Eficacitatea este maximă la 30 minute după ingerarea toxicului, dar antidotul este util şi mai târziu, când acesta a trecut de pilor.

Oxidoreducere: permanganatul de potasiu, în prezent rar folosit, este eficient în intoxicaţia cu morfină, atropină, cocaină, barbiturice etc. Activitatea

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

antidotică este accentuată de mediul alcalin şi limitată de causticitatea pentru mucoasa gastrică.

Formare de compuşi insolubili (puţin solubili): albuşul de ou şi laptele, datorită proteinelor din compoziţia lor, precipită ca albuminaţi unii alcaloizi şi săruri de metale grele; fiind emoliente, scad efectele substanţelor corozive şi caustice. Sunt contraindicate în intoxicaţia cu toxici liposolubili (paration, solvenţi organici etc.). *Acidul tanic* este rar folosit datorită hepatoxicităţii sale; precipită alcaloizii, glicozizii, sărurile metalice. *Sărurile solubile de calciu* (lactat, gluconat, clorură) precipită acidul oxalic, acidul fluorhidric, fluorurile, ca săruri insolubile de calciu. *Oxidul de magneziu* precipită anhidrida arsenioasă, arseniţii, ca săruri de magneziu insolubile şi este indicat, de asemenea, în intoxicaţia cu acizi. *Sulfatul de magneziu* precipită sărurile de bariu şi de plumb, dând combinaţii insolubile. *Clorura de sodiu* precipită azotatul de argint.

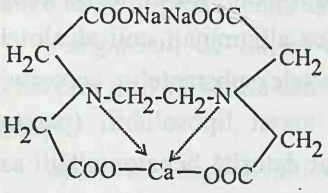
Formare de compuşi solubili netoxici: unele substanţe antiacide, cum ar fi oxidul de magneziu, sunt indicate la ingerarea de acizi; nu se recomandă administrarea per os de bicarbonat de sodiu şi carbonat de sodiu, deoarece în contact cu acizii degajă CO_2, provocând distensie gastrică, soldată uneori cu perforaţia peretelui stomacal deja lezat. Unele *substanţe antialcaline*, cum ar fi soluţia 1% de CH_3COOH, se recomandă uneori la neutralizarea bazelor caustice ingerate; este însă mai eficientă administrarea, chiar la locul accidentului, de apă potabilă, în mod repetat, urmată de provocare de vărsături, deoarece mai târziu în intoxicaţiile severe, actul deglutiţiei nu mai este posibil. *Soluţia de săpun* este antidot pentru detergenţii cationici, dând compuşi inactivi (după care se provoacă vărsături).

Chelatorii capabili să stabilească legături cu cationii metalici prin electronii neparticipanţi (de la -N, -O, -SH) formează chelaţi ciclici, stabili, solubili, netoxici. Stabilitatea creşte cu cifra de coordinare a metalului. Utilizarea chelatorilor ca antidot este limitată de: competiţia între metalul toxic şi metalele indispensabile organismului pentru acelaşi chelator (spoliere de metale); competiţia între chelatorul antidot şi chelatorii naturali (compuşi cu grupări –SH, ca enzime, tioaminoacizi etc.) pentru acelaşi metal (ineficienţa antidotului).

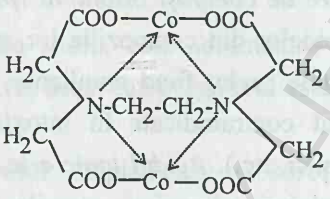
Principalii chelatori cu rol de antidot sunt:

Sărurile acidului etilendiaminotetraacetic (EDTA) (acid edetic) şi compuşii înrudiţi sunt antidoturi în intoxicaţii cu numeroase metale (Figura 1).

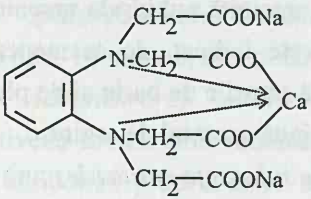
De la $(HOOC—H_2C)_2N—CH_2\text{-}CH_2—N(CH_2—COOH)_2$ (acidul etilendiaminotetra-acetic) derivă următoarele antidoturi:



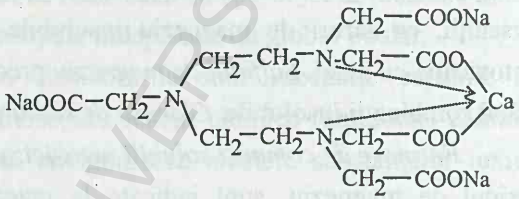
EDTA-$CaNa_2$



EDTA-Co_2 Kelocyanor



DCTA-$CaNa_2$



DTPA-$CaNa_2$

Figura 1. Săruri ale EDTA şi compuşii înrudiţi

- EDTA—$CaNa_2$ (Edetamin) este antidot în intoxicaţia cu Pb, precum şi cu alte metale (Ni, Cr, Fe, Cu, Mn, Cd, Co), dar puţin eficace în cazul Hg. Are loc un schimb ionic între calciu şi acel metal toxic cu mai mare afinitate pentru complexon decât Ca. Se formează complexonaţi (chelaţi interni) tridimensionali, cu stabilitate diferită, în funcţie de constanta lor de disociere.

- EDTA—Na_2 este recomandat în intoxicaţia cu digitalice, deoarece complexează Ca^{2+} (crescut în acest tip de intoxicaţie).

- EDTA—Co_2 (Kelocyanor) este antidot în intoxicaţia cu ionul CN^-, pe care-l fixează în două trepte, întrucât EDTA—Co_2 se disociază în două trepte:

$$EDTA—Co_2 \rightarrow [EDTA—Co]^{2-} + Co^{2+} \rightarrow EDTA^{4-} + 2Co^{2+}$$

$$Co^{2+} + 6CN^- \rightarrow [Co(CN)_6]^{4-}$$

Deoarece Kelocyanor se administrează în doză mai mare decât este necesar pentru fixarea CN^-, rămâne un exces de Co^{2+}; din această cauză se administrează, la 15 minute după Kelocyanor, EDTA—$CaNa_2$, care fixează excesul de Co^{2+}. Kelocyanor manifestă toxicitate la nivel cardiovascular atunci

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

când, din eroare, este administrat unui subiect neintoxicat cu CN^-. La supradozare apar efecte toxice.

— DCTA—$CaNa_2$ (*diaminociclohexantetraacetatul de sodiu şi calciu*) este folosit în intoxicaţia cu Cd, pentru că formează chelaţi mai puţin toxici decât EDTA—$CaNa_2$.

— DTPA—$CaNa_3$ (*dietilentriaminopentaacetatul de sodiu şi calciu)* este recomandat în intoxicaţia cu radioelemente din seria lantanidelor, ca şi cu unele metale grele (Pb, Fe, Mn).

D-Penicilamina (β, β—dimetilcisteina) (Figura 2) este antidot în intoxicaţia cu metale grele, în special cu Hg (mineral şi organic). De asemenea, este indicată în tratamentul bolii Wilson (o degenerare hepatolenticulară prin depunere intracelulară de Cu în ficat, consecinţă a unui deficit în ceruloplasmină).

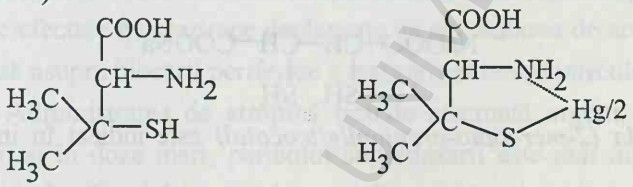


Figura 2. D-Penicilamina şi complexul acesteia cu mercurul

Este contraindicată în intoxicaţia cu Cd (formează chelaţi nefrotoxici). Toxicitatea D-penicilaminei fiind redusă, permite un tratament îndelungat; s-au semnalat şi unele reacţii adverse.

Ditiocarb (dietilditiocarbamatul de sodiu), $(C_2H_5)_2N—C(S)—Sna$, este recomandat în special în intoxicaţia cu nichel carbonil.

Desferioxamina (Desferalul) (Figura 3) este recomandată în intoxicaţia cu fier şi în hemocromatoză. Fierul este eliminat prin legare covalentă la nivelul resturilor hidroxamice, rezultând un complex ferioxamic eliminabil renal. Desferal nu scoate Fe^{2+} din hemoglobină, citocromi etc. şi nici nu spoliază organismul în alte microelemente.

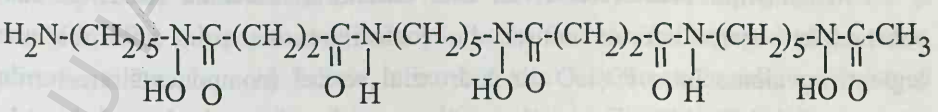


Figura 3. Desferioxamina (Desferalul)

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

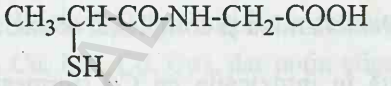
Antidoturi cu grupări SH (care nu formează legături coordinative):

Dimercaptopropanolul (DMP) a fost utilizat pentru prima dată (1941) ca antidot al levizitei (se mai numeşte BAL, de la cuvintele British Anti-Lewisite). Este utilizată ca antidot în intoxicaţiile acute cu As şi Hg (mineral), însă este mai puţin eficient în intoxicaţiile cu Cd, Pb, Fe, Se, V, ca şi în cazul leziunilor hepatorenale grave.

DMP leagă metalul în stare ionică din combinaţiile organice sau fixat pe grupările –SH din enzime (proteine). Acesta are dezavantajul spolierii organismului de unele metale utile (Cu, Zn, Ca, Mg) şi inactivarea insulinei, citocromoxidazei etc. datorită acţiunii reducătoare a grupărilor –SH.

Dimercaptosuccinatul de sodiu este recomandat în intoxicaţia cu $HgCl_2$ şi a fost încercat şi în intoxicaţia cu Pb (1978). Este mai puţin toxic decât DMP şi nu spoliază organismul de microelemente.

– *Thiola (2-mercapto-propionilglicocolul)* este indicat în intoxicaţia cu compuşii Hg.



– Reactivatorii colinesterazei de tip aldoximic au fost introduşi în terapeutică în 1955 de Wilson. În prezent se folosesc:

Pralidoxima (PAM-2) (metiliodura de piridilaldoximă) şi *obidoxima (toxogonin)* (Cotrău, 1993). Substanţele organofosforice (insecticidele, substanţele toxice de luptă etc.) blochează centrul activ al acetilcolinesterazei (AchE), împiedicând accesul substratului acetilcolina la enzimă; aceasta se acumulează la nivelul sinapselor, conducând la fenomene toxice. Reactivarea AchE are loc spontan, dar lent prin hidroliză.

Mecanismul acestei reactivări este următorul: blocarea AchE de către substanţele organofosforice constă din fosforilarea sa, prin stabilirea unei legături covalente între P şi O din hidroxilul serinei (componentă a centrului esterazic al AchE). Aldoxima se plasează cu azotul cuaternar în dreptul centrului anionic al AchE; hidrogenul de pe gruparea oximică reface centrul esterazic al

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

AchE (:N...HO—), iar restul fosforic se leagă de aldoximă, eliberând enzima (vezi *Insecticide organofosforice*).

Acest proces are loc dacă tratamentul este aplicat imediat, când enzima este reactivată („tânără"). Dacă tratamentul este tardiv, enzima este nereactivabilă („îmbătrânită"), rămânând definitiv blocată. Se presupune că aldoxima reacţionează, în afara acestui mecanism de reactivare, şi prin facilitarea transmisiei neuromusculare pre- şi postsinaptice, ceea ce contribuie la revenirea la normal a transmisiei blocată de către organofosforice.

Toxigoninul, deşi are în structură doi radicali amoniu cuaternar, poate străbate bariera hematoencefalică, permiţând reactivarea acetilcolinesterazei din SNC.

Antidoturile fiziologice (antagoniştii) sunt:

Atropina este folosită în intoxicaţia cu substanţe organofosforice, în care caz combate efectele muscarinice declanşate de acumularea de acetilcolină, însă nu acţionează asupra blocării periferice a transmisiei neuromusculare din această intoxicaţie. Administrarea de atropină trebuie efectuată urgent, chiar la locul accidentului, şi în doze mari; pericolul supradozării este mai mic decât cel al subdozării, iar dozele mici de atropină periclitează viaţa intoxicatului.

Fizostigmina (eserina), o amină terţiară, combate acţiunea substanţelor anticolinergice (colinolitice), fiind un inhibitor reversibil al colinesterazei. Asemănător acţionează şi aminele cuaternare *neostigmina (prostigmin, miostin)* şi *piridostigmina*.

Nalorfina, *levalorfanul* şi *naloxanul* combat efectele toxice majore ale analgezicelor narcotice de tip morfinic, acţionând competitiv asupra aceloraşi receptori şi crescând sensibilitatea centrului respirator faţă de bioxidul de carbon. Aceşti antagonişti nu sunt recomandaţi în intoxicaţia cu alte deprimante ale SNC.

Vitaminele utilizate ca antidoturi sunt:

Acizii folic şi *folinic* sunt antidoturi în intoxicaţia cu citostatice (aminopterină, metotrexat). Acidul folic se reduce, succesiv, la acizii di- şi tetrahidrofolic sub acţiunea reductazelor specifice. Acidul tetrahidrofolic trece, prin formilare, în acid folinic, care ia parte la sinteza bazelor purinice şi pirimidinice necesare formării acizilor nucleici. Citostaticele acţionează ca antimetaboliţi ai acidului folic, inhibând reductaza acidului dihidrofolic, deci

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

blocând sinteza acidului folinic, respectiv a acizilor nucleici. Administrarea acizilor folic şi folinic restabileşte această sinteză.

Fitomendiona (*vitamina K_1*) este antidotul specific pentru anticoagulantele orale — derivaţi de cumarină şi indantionă. Vitamina K_1 are rol de coenzimă în sinteza complexului protrombinic, implicat în coagulare. Anticoagulantele orale acţionează ca antimetaboliţi ai vitaminei K_1, încât intoxicaţia cu aceste medicamente conduce la blocarea sintezei complexului protrombinic, exprimată prin hemoragii. Administrarea de vitamină K_1 determină creşterea sintezei complexului protrombinic.

Hidroxicobalamina (vitamina B_{12a}) este indicată în intoxicaţia cu cianuri, deoarece are mare afinitate pentru CN^-, dislocuindu-l din ciancitocromoxidază. Hidroxilul fixat pe Co din vitamina B_{12a} este înlocuit cu CN^-, rezultând ciancobalamina (vitamina B_{12}). Acţiunea antidotică a vitaminei B_{12a} este sinergică cu a tiosulfatului.

Piridoxina (*vitamina B_6*) este antidot fiziologic în intoxicaţia cu izoniazidă, care se însoţeşte de scăderea piridoxemiei.

Antidoturile cu acţiune indirectă sunt:

Nitritul de sodiu (*sau amil*) este antidot pentru CN^-. Nitritul produce methemoglobină care, având mai mare afinitate pentru citocromoxidază decât ionul cian, îl deplasează şi formează cianmethemoglobină, eliberând astfel citocromoxidaza.

Tiosulfatul de sodiu este antidot pentru CN^-, însă prin alt mecanism decât nitritul. În mod normal CN^- se detoxifică sub acţiunea rodanazei. Administrarea tiosulfatului, substratul necesar enzimei, accelerează ritmul de formare a SCN^-.

Albastrul de metilen este antidot pentru methemoglobinizante. Acestea transformă o parte de Hb (Fe^{2+}) în MetHb (Fe^{3+}) incapabilă de a transporta oxigenul. Albastrul de metilen funcţionează ca un sistem redox: el se reduce la derivatul leucometilen, care reduce apoi MetHb la Hb. Derivatul leucometilen se reface, oxidându-se prin intermediul sistemului diaforazic, având drept coenzime pe NADH şi NADPH. În acest mod se activează concomitent ciclul pentozic, dependent de aceste coenzime.

Alte sisteme redox utilizate ca antidoturi pentru methemoglobinizante sunt *tionina* şi *acidul ascorbic.*

BCU "CAROL I" CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Etanolul este antidot pentru metanol şi etilenglicol. Ambii alcooli îşi manifestă toxicitatea, în mare măsură, prin metaboliţii lor toxici. Metabolizarea are loc sub acţiunea alcooldehidrogenazei (ADH), iar aceeaşi enzimă catalizează şi metabolizarea etanolului, pentru care posedă însă mai mare afinitate decât pentru ceilalţi alcooli. Prin administrare de etanol în intoxicaţiile cu metanol şi etilenglicol, metabolizarea acestora este blocată, căci ADH este saturată de etanol.

Clorura de sodiu este antidot pentru ionul Br^-. Fiind mai hidrosolubil decât Cl^-, ionul de brom îl înlocuieşte pe acesta din mediile biologice, rezultând fenomene toxice. Administrarea de ser fiziologic concomitent cu salidiuretice determină o diureză forţată salină, când se elimină atât NaCl cât şi NaBr, debarasând astfel organismul de Br^-.

Oxigenul hiperbar (2-3 atm) este antidot pentru monoxidul de carbon, CO, combătând hipoxia determinată de acesta. Acţiunea antidotică se bazează pe competiţia între CO şi O_2 pentru hemoglobină, mioglobină şi citocromi. Administrarea de O_2 100%, sub presiune determină creşterea cantităţii de O_2 solvit în plasmă, cu reducerea hipoxiei şi accelerarea procesului de descompunere a carboxihemoglobinei în hemoglobină şi monoxid de carbon.

Citocromul c este recomandat uneori în intoxicaţia cu monoxid de carbon, deoarece întrerupe lanţul reacţiilor care conduc la hipoxie tisulară.

Pseudocolinesteraza exogenă sau plasma joacă rol de tampon fiziologic în intoxicaţia cu organofosforice, suplinind colinesteraza plasmatică inhibată de toxic.

Favorizarea eliminării substanţelor toxice absorbite

Se aplică diferite metode în funcţie de natura intoxicaţiei. Diureza forţată se recomandă în cazul substanţelor toxice ce se elimină, de regulă, pe cale renală. Hemodializa se aplică substanţelor toxice dializabile, iar hemoperfuzia substanţelor toxice ce pot fi absorbite pe cărbune activat. În cazul substanţelor toxice gazoase şi volatile se aplică ventilaţia mecanică, iar în cel al oxidului de carbon, oxigenoterapia hiperbară.

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Tratamentul simptomatic. Măsurile de asigurare a funcţiilor vitale constituie adesea primul act din ansamblul măsurilor terapeutice de urgenţă.

Tratamentul intoxicaţiilor cronice. Tratamentul intoxicaţiilor cronice este, de regulă, simptomatic şi vizează restabilirea funcţiilor vitale sau redresarea unor organe afectate de toxic. În intoxicaţiile cronice cu metale (Pb, Hg, Mn) se administrează periodic chelatori pentru descărcarea organismului de toxic. În intoxicaţiile cronice cu medicamente care produc toleranţă şi dependenţă se practică scăderea progresivă a dozelor şi, uneori, aplicarea temporară a unor produse de sinteză (metadonă în morfinomanie), împreună cu alte măsuri terapeutice adecvate.

În intoxicaţiile cronice cu metale (boala aluminiului) se poate face apel la terapia homeopatică, ce utilizează ca remediu doze infinitezimale din respectivele metale. Boala Alzheimer poate fi asociată cu aluminiul care ajunge în corp din vasele de bucătărie sau din recipientele pentru semipreparate culinare.

Bibliografie

Batra, V.K., *Toxicokinetics/Toxicodynamic Correlations: Goals, Methods, and Limitations*, în *Toxicol. Pathol.*, 23, 1995, p. 158-164.

Fan, T.W.M., Lorkiewicz, P.K., Sellers, K., Moseley, H.N.B., Higashi, R.M., Lane, A.N., *Stable Isotope-resolved Metabolomics and Applications for Drug Development*, în *Pharmacol Therap*, 133, 2012, p. 366-391.

Goole, J., Lindley, D.J., Roth, W., Carl, S.M., Amighi, K., Kauffmann, J.M., Knipp, G.T., *The Effects of Excipients on Transporter Mediated Absorption*, în *Int J Pharm*, 393, 2010, p. 17-31.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

3. Elemente de toxicologie industrială

Sistemul periodic şi toxicitatea

Însuşirile fizico-chimice ale elementelor au un caracter periodic şi sunt legate direct de structura lor electronică. Proprietăţile toxicologice ale acestora nu prezintă însă caracter periodic. Toxicitatea reprezintă o proprietate care poate fi atribuită practic oricărei substanţe din mediul înconjurător. În cadrul chimiei, proprietăţile elementelor şi ale compuşilor acestora pot fi studiate în raport cu sistemul periodic, în funcţie de poziţia în grupe şi în perioade. Proprietăţile toxicologice ale elementelor şi ale compuşilor chimici în general depind atât de structura lor electronică şi de legăturile chimice dintre elemente cât şi de natura organismelor vii cu care interacţionează.

Astfel, halogenii, deşi sunt în aceeaşi grupă, iar proprietăţile lor fizico-chimice variază cu poziţia în grupă, prezintă însuşiri toxicologice aproape identice. De exemplu, concentraţia maximă admisibilă (CMA) a fluorului, clorului, bromului şi iodului este de 1 mg/m^3.

Fluorul este indispensabil organismului (necesarul fiind de 0,5 mg fluor/zi), iar iodul este necesar sintezei tiroxinei. Clorul se găseşte în corp, în cantitate relative mare, sub forma clorurii de sodiu.

Dozele letale ale unor săruri sunt însă diferite: 15 g soluţie de HF, 5-10 g NaF, în timp ce 1 g KI/zi poate constitui medicament.

În perioadă, elementele chimice Li, Mg, B, C, N, O, F şi Ne trebuie analizate separat în ceea ce priveşte toxicitatea. Astfel, litiul este teratogen, magneziul, carbonul, azotul, oxigenul şi neonul nu sunt toxice, în timp ce fluorul este deosebit de toxic. Compuşii acestora au, de asemenea, toxicităţi diferite. Să comparăm, de exemplu, toxicitatea unor compuşi ai carbonului: C, CO, CO_2, H_2CO_3, CH_2O, CH_3OH, HCN, HSCN, S=C=S şi vom remarca variaţia toxicităţii de la aproape netoxic (C, CO_2) la foarte toxic (HCN).

Ordinea relativă a descreşterii toxicităţii ar fi: HCN-otravă tipică, sulfura de carbon-toxic al sistemului nervos central (SNC), alcoolul metilic (CH_3OH) –

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

în doze de 20-50 g provoacă orbire, iar la concentraţii mai mari moartea, formaldehida (CH_2O)-stresor nespecific, toxic general şi puternic, monoxidul de carbon (CO), blochează respiraţia prin fixarea sa pe molecula de hemoglobină, în timp ce bioxidul de carbon are o toxicitate redusă, iar carbonul ca element chimic nu este toxic.

Compuşii azotului prezintă, de asemenea, toxicităţi diferite: NH_3 este toxic, la fel şi hidrazina (H_2N-NH_2), în timp ce protoxidul de azot (N_2O), gazul ilariant, este folosit în medicină ca narcotic, fiind slab toxic. Hipoazotida (N_2O) este toxică, dar N_2 este netoxic în condiţii normale.

Elementele traziţionale, cum ar fi cele din grupa Sc-Zn, şi anume Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, au raza şi volumul atomic ce variază în limite strânse. De exemplu, raza atomică a atomului de crom este de 1,27 Å, a atomilor de fier şi de cobalt este de 1,26 Å, iar Co, Ni şi Zn au 1,25 Å, 1,24 Å şi, respectiv, 1,38 Å. De asemenea, volumele atomice variază în limite strânse, de la 6,6 la Ni până la 7,39 la Mn. Electronegativitatea acestor elemente este, de asemenea, apropiată (1,5-1,9). Pe de altă parte, toxicitatea lor diferă mult. De pildă, concentraţia maximă admisibilă (CMA) a cromului este de 15 mg/mc de aer, în timp ce a manganului este de numai 0,5 mg/mc, egală cu a nichelului (0,5 mg/mc de aer). În acelaşi timp, CMA este de 1mg/mc de aer pentru cupru, 10 mg/mc de aer pentru zinc, iar Hg, Pb şi Cd sunt toxice în orice concentraţie.

Explicaţia rezidă în faptul că organismele vii prezintă fenomene biologice ce se manifestă pe structuri specifice, numite generic biostructuri. Legile viului sunt determinante în domeniul biologic, în timp ce legităţile fizico-chimice se aplică numai în regnul mineral. Astfel, elementele şi compuşii acestora acţionează sau interacţionează cu structurile organismelor vii numai în măsura în care acestea permit aşa ceva. Vorbim astfel de interacţiunea dintre organism viu şi toxic şi nu de acţiunea substanţelor toxice asupra organismelor vii. Injectarea unei substanţe îi permite acesteia interacţiunea fizico-chimică cu materia moleculară coexistentă (Macovschi, 1969). Cu alte cuvinte, toxicii acţionează asupra unui organism viu numai în măsura în care acesta o permite, dacă este slăbit, îmbătrânit sau nu, dacă a suferit leziuni anterioare intoxicării etc. Legile din domeniul mineral, fizico-chimic nu se aplică domeniului biologic. Aceasta se vede şi din faptul că un organism mort este diferit afectat de substanţele chimice în raport cu unul viu.

Compuşi chimici toxici

Dacă elementele chimice prezintă un anumit grad de toxicitate, combinaţiile acestora se comportă diferit, în funcţie de structura lor chimică şi de biostructura organismului cu care intră în contact. Acidul cianhidric este deosebit de toxic, deşi hidrogenul se găseşte şi în apa potabilă, azotul în aerul atmosferic, iar carbonul reprezintă scheletul tuturor componentelor chimice ce compun organismele vii. Se poate constata efectul toxic al acidului cianhidric, dar, biologia moleculară modernă găseşte doar explicaţia legată de reacţia cu Fe^{2+} din citocrom *c* oxidază. O explicaţie mai completă se poate da numai în cadrul unei forme structural-fenomenologice asupra corpurilor vii (Drochioiu, 2008; Murariu & Drochioiu, 2012). Astfel, acidul cianhidric ce apare curent şi în sângele vertebratelor, reprezintă un produs de degradare al proteinelor, prin eliminarea apei şi a bioxidului de carbon din molecula acestora. Dacă eliminarea este incompletă se ajunge la compuşi alcaloidici sau ptomaine (otrăvuri din cadavre), iar dacă este avansată se poate elibera acidul cianhidric. Toţi aceşti compuşi acţionează asupra sistemului nervos şi a nervilor. Citocrom *c* oxidaza se găseşte şi în plante, însă acestea sunt mult mai rezistente la HCN. Rezultă deci că intoxicaţia are efecte mult mai profunde, iar diferitele produse de degradare a proteinelor pot acţiona asupra nivelului psihostructural din fiinţa animală şi din cea umană. Aminoacizii, care conţin aceleaşi elemente, adică C, H, N, dar şi oxigen sunt practic netoxici.

Elementele chimice toxice

Fluorul, F_2

Etiologia intoxicaţiilor. Fluorul este un microelement indispensabil organismului (necesar 0,5 mg F/zi). Majoritatea intoxicaţiilor au loc cu F_2 şi, în special, cu HF, deoarece F_2 trece în HF în prezenţa vaporilor de apă. S-au semnalat cazuri de intoxicaţii voluntare (crime) şi accidente (confuzie), facilitate de lipsa de culoare şi de miros a fluorurilor. Majoritatea intoxicaţiilor sunt profesionale (la prepararea şi utilizarea fluorului şi a compuşilor săi) şi hidrotehnice (prin apă potabilă, legume etc. provenite din soluri bogate în minereuri de fluor).

*Toxicocinetică.*Fluorul pătrunde în organism pe cale respiratorie (gaz sau aerosoli) şi digestiv (HF lichid, fluoruri, apă şi alimente). După absorbţie, acesta

se distribuie rapid. Majoritatea este depozitat în schelet şi în dinţi sub formă de CaF_2. Din fluorul ingerat, 50% se elimină urinar ca atare.

*Toxicodinamie.*Fluorul, toxic cumulativ, se depozitează în schelet şi în dinţi în trei etape: fluorizare neînsoţită demodificări macro- sau microscopice (sub 2.500 ppm; ppm = mg/kg); pătarea oaselor fără alte modificări (2.500-5.000 ppm); anomalii osoase constând din suprafeţe neregulate (5.000-6.000 ppm).

Fluorul se combină cu acetatul din organism, cu formare de fluoracetat, care cu citratul conduce la fluorcitrat, responsabil de "sinteza letală". Fluorul spoliază organismul în calciu prin formarea CaF_2 nedisociabilă, determinând perturbări în coagularea sângelui, tetanie, dereglarea raportului Ca/K. De asemenea, leagă Fe şi Mg şi implicit inhibă enzimele care necesită aceste metale. Fluorul are şi efect toxic direct asupra fibrei miocardice. Este iritant şi coroziv pentru tegumente şi mucoase. Dozele letale sunt de 15 g HF soluţie, 5-10 g NaF, 1 g fluorsilicat de Na, 0,05-0,10 g fluoracetat.

Simptomatologie. Intoxicaţia acută prin inhalare se manifestă prin iritaţia mucoaselor respiratorii, a corneei, a conjunctivei, constricţie toracică, sufocare, cianoză. La ingerare, apar fenomenele digestive proprii ingerării acizilor corozivi. În ambele cazuri sunt prezente manifestările caracteristice.

Primul ajutor. La ingerare de HF se aplică măsurile de la acizi corozivi. La ingerarea de fluoruri se procedează ca la acidul oxalic, deoarece antidotul este comun acestor toxici, şi anume sărurile solubile de calciu. La inhalare se evacuează victima din mediul toxic şi se menţine în repaus. Tegumentele (mucoasele) arse sunt spălate cu apă din abundenţă şi se aplică o pastă cu MgO (pentru tratarea unghiilor se procedează ca la acizi corozivi).

Profilaxie. În cazul fluorozei profesionale se iau precauţiile obişnuite menţionate în orice toxicologie generală la măsuri de prim ajutor. În cazul fluorozei endemice se supraveghează conţinutul în fluor al apei, ţinând cont că limita maximă admisă este de 1 mg F/litru apă şi depinde de cantitatea deapă consumată şi de sensibilitatea individuală.

Analiza toxicologică. Fluorul se cercetează din aer (hârtia impregnată cu reactiv zirconiu-alizarinsulfonat de sodiu se decolorează), urină (direct sau după o prealabilă izolare şi precipitare ca BaF_2 cu H_2SO_4). Dozarea se bazează pe decolarea unor indicatori metaiorganici, ca zirconiu-alizarin-sulfonat sau

indirect, prin formarea complexului nedisociabil al fluorului cu fierul şi dozarea excesului de fier sub forma de sulfocianură ferică.

Clorul, Cl_2

Etiologia intoxicaţiilor. Intoxicaţiile sunt determinate de clorul gazos şi lichid şi de substanţele generatoare de clor (hipocloriţi, cloramină) în condiţiile de preparare, transport, manipulare şi utililizare (industria chimică, textilă şi a hârtiei, spălătorii chimice, staţii de sterilizare a apei, laboratoare etc). Majoritatea intoxicaţiilor sunt profesionale, uneori însă şi acidentale, prin utilizarea substanţelor generatoare de clor în uz casnic.

Toxicocinetică. Clorul pătrunde în organism pe cale respiratorie şi determină un ritm respirator neregulat, constituind fenomenul de sufocare. Clorul gazos este un toxic de contact, care reacţionează direct cu ţesuturile, pe care le lezează. La nivel bronşic şi alveolar, clorul se dizolvă în lipidele tisulare şi, fiind avid de hidrogen, distruge substanţele organice, cu formare de HCl.

Toxicodinamie. Clorul este un gaz sufocant şi iritant caustic, tipic. În contact cu mucoasele căilor respiratorii superioare determină inhibiţie respiratorie reflexă, ca urmare a excitaţiei periferice a trigemenului, cu micşorarea concomitentă a schimburilor gazoase tisulare (scăderea concentraţiei de O_2 şi a eliminării de CO_2 prin acumulare în ţesuturi). Depăşind bariera glotică, clorul provoacă o expirare bruscă, urmată de polipnee reflexă. Iritarea concomitentă a căilor respiratorii superioare (cu oprirea respiraţiei) şi a celor inferioare (cu accelerarea respiraţiei) determină un ritm respirator neregulat, constituind fenomenul de sufocare. Clorul formează, cu apa tisulară, HCl şi HClO. Aceste substanţe sunt caustice şi oxidante şi acţionează local, determinând edem pulmonar acut lezional, prin lezarea pereţilor alveolari, cu acumulare de lichid în interstiţiul pulmonar şi în lumenul alveolar.

*Simptomatologie.*În *intoxicaţia supraacută* moartea survine rapid prin sincopă respiratorie reflexă sau edem pulmonar grav. *Intoxicaţia acută* debutează cu faza de iritaţie (tuse, sufocare, durere retrosternală, lăcrimare, anxietate, stare de prostraţie, încât victima nu poate părăsi locul accidentului). Urmează o fază de remisiune aparentă, corespunzătoare stabilirii unui echilibru, în care plămânul, deşi lezat, poate asigura o hematoză minimă. În final se ajunge

la faza de edem pulmonar acut, cu angoasă, facies cenuşiu, polipnee, tuse cu expectoraţie spumoasă.

Intoxicaţia subacută se manifestă cu astenie, tuse, dispnee moderată.

Intoxicaţia cronică se manifestă prin leziuni cutanate, tulburări respiratorii, digestive, oculare şi dentare (determinate de HCl).

Primul ajutor. Accidentatul va fi scos imediat din zona contaminată şi dus într-o încăpere caldă şi bine ventilată. Se îndepărtează hainele şi se decontaminează tegumentele cu apă şi săpun. Se inhalează imediat o fiolă de nitrit de amil (pe compresă); operaţia se repetă din 5 în 5 minute, cel mult 20 minute; se va evita asfixierea prin căderea limbii, resturi alimentare etc. În caz de stop respirator se face respiraţie artificială cu oxigen pur (este contraindicată respiraţia gură la gură), concomitent cu inhalarea de nitrit de amil (o fiolă pe compresă), care se repetă din 5 în 5 minute, cel mult 20-25 minute. În intoxicaţia prin ingestie se va proceda astfel:

- inhalarea imediată de nitrit de amil o fiolă (pe compresă), iar operaţia se repetă din 5 în 5 minute, cel mult 25 minute;
- spălătură gastrică cu $KMnO_4$ 1/5000, H_2O_2 3% şi $Na_2S_2O_3$ 1%;
- dacă spălătura gastrică nu este posibilă, se recomandă ingerarea de cantităţi mari din aceleaşi soluţii, urmată de provocarea de vărsături;
- administrarea de purgative saline;
- oxigenoterapie;
- se va anunţa medicul care va conduce mai departe tratamentul necesar.

Profilaxie. Persoanele care urmează să lucreze cu Cl_2 trebuie să fie instruite asupra pericolelor la care se expun. În dotarea laboratorului sau a secţiei trebuie să existe suficiente aparate pentru protecţia respiraţiei. De asemenea, ventilaţia din laboratoarele sau încăperile de lucru trebuie să fie foarte eficace.

Analiză toxicologică. Clorul se cercetează din aer şi apă. Identificarea se realizează cu: a) hârtii indicatoare impregnate cu KI şi amidon (coloraţie albastră), fluoresceină şiKBr în mediu alcalin (formarea tetrabromfluoresceinei, roşie), anilină şi ortotolidină în mediu acid acetic (coloraţie albastră); b) recoltare în soluţii absorbante (soluţia de ortotolidină se colorează în galben-reacţia Bâhovscaia), soluţia de anilină în mediu alcalin se colorează în roşu-violet (reacţia moveinei), soluţia de anilină şi fenol se colorează în albastru. Dozarea clorului se realizează cu ortotolidină sau cu o soluţie absorbantă

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

conţinând arsenit, Kl, $K_2Cr_2O_7$ şi amidon. Dozarea se efectuează şi prin reacţia între ionul Cl^- cu sulfocianura mercurică, când se formează tetracloromercuriat şi SCN^- (care este dozată ca sulfocianură ferică).

Bromul, Br_2

Bromul este un lichid volatil, fumigant, de culoare roşu închis, cu miros sufocant, foarte solubil în C_2H_5OH, $CHCl_3$. Acesta poate genera intoxicaţii la manipularea şi utilizarea lui. Se foloseşte ca agent de bromurare şi oxidare, pentru prepararea unor derivaţi sau ca decolorant şipentru purificarea apelor fiind bactericid. Pătrunde în organism respirator şi digestiv sau transcutanat. Provoacă arsuri profunde pe piele care se vindecă greu. Expunerea la concentraţii mici de Br_2 este urmată de tuse, secreţie mucoasă abundentă, dificultate în respiraţie, vertij, dureri de cap şi iritaţie puternică a ochilor. În organism se transformă în Br^- şi sub această formă se elimină renal. Bromul este iritant-caustic local, iar absorbit, deplasează clorul, determinând tulburări nervoase. La inhalarea de vapori apar fenomene iritativ-sufocante (prin acelaşi mecanism ca la clor), cu spasm glotic şi iritaţie puternică a mucoasei oculare. Ingerarea determină eroziuni grave pe tractul digestiv. Contactul cutanat produce eritem, vezicule, ulceraţii profunde, greu vindecabile. Intoxicaţia cronică se manifestă prin leziuni cutanate, conjunctivite, gingivite, stomatite şi coloraţia galbenă a fanerelor.

Doza letală (ingerare) < 1 ml brom.

Măsuri de protecţie. Manipularea Br_2 se va face cu atenţie şi numai sub nişe cu tiraj eficient. Transportul se realizează în vase speciale, instalaţia de lucru trebuie să fie perfect etanşă; se utilizează mănuşi de laborator, ochelari şi, după caz, mască de protecţie.

Primul ajutor în cazul inhalării constă în evacuarea din mediul toxic, oxigenoterapie, repaus absolut, aerosoli cu tiosulfat. La ingerare se administrează oral apă (preferabil însă suspensie de MgO sau soluţie de amidon) şi se provoacă vărsături. Tegumentele arse se spală abundent cu apă, apoi cu tiosulfat de sodiu soluţie 10 %. Vaporii de Br_2 în concentraţie ridicată determină leziuni corozive ale membranelor mucoase nasofaringiene, ale căilor respiratorii, precum şi arsuri chimice fatale ale plămânilor.

BCU ASTRA CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Concentraţiile de 3-6 mg Br_2/m^3 din aer sunt suportate fără mască de protecţie. Sufocarea se produce la 11-23 mg Br_2/m^3, în timp ce la 30-60 mg Br_2/m^3 apar fenomene toxice grave, iar la 220 mg Br_2/m^3 se ajunge la deces rapid. Ingestia unor cantităţi mici de Br_2 provoacă stomatită esofagică, gastrită şi enterită hemoragică.

Primul ajutor. Se scoate imediat intoxicatul din atmosfera toxică, iar tegumentele arse se spală cu multă apă, apoi cu $Na_2S_2O_3$ soluţie 10%.

În caz de stropire a ochilor cu Br_2, aceştia se spală urgent cu multă apă, apoi cu o soluţie de H_3BO_3; se recomandă, de asemenea, instilaţii cu cocaină 2%. Se pulverizează în căile superioare o soluţie de $Na_2S_2O_3$ 1% sau de bicarbonat de sodiu 1%. Se face gargară cu aceleaşi produse. La ingerare, se administrează oral suspensie de oxid de magneziu sau soluţie de amidon şi se provoacă vărsături. Se mai recomandă oxigenoterapie şi, obligatoriu, se va anunţa medicul.

Analiza toxicologică. Bromul se cercetează din aer, ca în cazul clorului, cu hârtii indicator impregnate cu iodură de potasiu (KI) şi amidon cu formarea unei colorații albastre. Dacă este prezent înorgane, bromulse deplasează cu un curent de aer, iar vaporii sunt captaţi în Kl şi amidon (coloraţie albastră) sau în soluţie de fenol 2 % (opalescenţă albă de tribromfenol), deoarece o parte din brom trece în Br_2. Organele setrateză cu o soluţie de KOH, se evaporă la sec şi se mineralizează; în reziduu se cercetează bromul cu soluţie de ortotolidină, Kl şi amidon, fluoresceină (formarea eozinei, culoare roşie), roşu de fenol (formarea alfaastrului de fenol). Bromul colorează fucsina în roşu. Dozarea se efectuează spectrofotometric, prin una din recţiile de mai sus. Dozarea presupune titrare argentometrică şi gravimetrică sub formă de AgBr. Dozarea se poate face şi prin reacţia cu KI, titrând iodul eliberat cu $Na_2S_2O_3$.

Iodul, I_2

Intoxicaţiile generate de iod pot fi accidentale (prin confuzie), voluntare (sinucideri cu tinctură de iod), medicamentoase (hipersensibilitate), profesionale (iodism). În stare de vapori, iodul pătrunde în organism pe cale respiratorie, iar ca tinctură (sau soluţii apoase), pe cea digestivă. După absorbţie este acumulat în mare parte în glanda tiroidă. Se elimină prin urină sub forma de ioduri. Acţiunea vaporilor este asemănătoare celor de brom şi clor, care sunt însă mai iritanţi.

BCU IAŞI CENTRALA UNIVERSITARĂ LIBRARY

Iodul irită tegumentele, iar prin ingerare este metbemoglobinizant. Doza letală (ingerare) este de 0,5-2 g iod şi 10-30 ml tinctură de iod.

Inhalarea vaporilor determină, în raport cu concentraţia, de la iritaţia cutaneo-mucoasă până la edem pulmonar acut. La ingerarea tincturii de iod apare gust metalic, apoi arsuri în gură, vărsături şi diaree. Contactul cutanat (cristale sau soluţii concentrate) determină arsuri chimice (asemănătoare celor termice), greu vindecabile. Hipersensibilitatea la ioduri alcaline se exprimă prin stare febrilă, tahicardie, tulburări digestive, iar la substanţele de contrast, prin anxietate, frisoane sau chiar stare de şoc. Intoxicaţiile cronice (iodism) sunt caracterizate prin rinite, bronşite, agitaţie psihomotorie, eritem.

Primul ajutor în cazul inhalării constă din evacuare din mediul toxic, oxigenoterapie, repaus absolut şi aerosoli cu tiosulfat. La ingerare se administrează oral mari cantităţi de amidon, apoi spălătura gastrică cu tiosulfat de sodiu 1%, câte 300 ml; se evacuează şi se repetă până la dispariţia culorii albăstrui a amidonului ingerat. Tegumentele arse se spală abundent cu apă, apoi cu tiosulfat soluţie 10%.

Analiză toxicologică. Iodul se cercetează în aer (ca şi în cazul clorului) şi în medii biologice (prin antrenare de vapori de apă sau prin mineralizare). Identificarea se realizează cu o soluţie de amidon sau prin formare de iodură de argint, AgI, iar dozarea, prin dizolvare în $CHCl_3$ (coloraţie violetă, colorimetrabilă).

***Grupa a VI-a** cuprinde* elementele O, S, Se, Te şi Po. Oxigenul manifestă o anumită toxicitate în funcţie de concentraţia sa în atmosferă. O formă alotropică a acestuia prezintă o toxicitate reală, ozonul, acesta având totodată un rol de protecţie asupra întregii lumi vii de pe planetă. Seleniul reprezintă un microelement cu rol important în procesele respiratorii ale ţesuturilor. Compuşii acestor elemente prezintă o toxicitate diferită în funcţie de atomii de care se leagă şi, respectiv, de tipul legăturilor. Oxigenul legat de hidrogen, în apă, conferă acesteia o lipsă totală de toxicitate, în timp ce nitroderivaţii, în care oxigenul este legat de atomul de azot, sunt toxici.

Ozonul, O_3

Ozonul este o formă alotropică a oxigenului care se formează atunci când alături de O_2 se găseşte şi oxigen în stare născândă. În straturile mijlocii şi

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

superioare ale atmosferei, O_3 se formează din O_2 sub acţiunea descărcărilor electrice, ajungând chiar la concentraţii de 1 ppm. Ozonul este componentul principal al „smog"-ului oxidat, rezultat din produsele de ardere a combustibililor în anumite condiţii climaterice, ca la Los Angeles şi se găseşte sub formă de radicali liberi peroxidici. Intoxicaţia cu O_3 poate apărea la formarea sa (sudură cu arc electric, funcţionarea aparatelor electrice de înaltă tensiune sau a lămpilor cuvapori de mercur etc.) şi la întrebuinţare (agent oxidant, decolorant, sterilizant).

Efectele toxice ale O_3 au fost atribuite iniţial oxizilor de azot care-l însoţesc atunci când este preparat din aer. Ulterior s-a constatat că şi O_3 preparat din O_2 pur este toxic. Ozonul acţionează ca un agent oxidant puternic, eliberând în organism un exces de oxigen, iritant pentru mucoasele respiratorii şi oculare chiar în concentraţie de 1 ppm. În contact cu tegumentele, O_3 lichid, ca şi O_2 lichid, produce arsuri profunde.

Intoxicaţia acută se manifestă prin lăcrimare, strănut, tuse şi rareori edem pulmonar, astenie şi cefalee. Cazurile letale sunt rare, probabil pentru că mirosul caracteristic constituie un semnal de alarmă. Totuşi, O_3 poate afecta terminaţiile nervoase olfactive, cu diminuarea mirosului. Intoxicaţia cronică se exprimă prin astenie, cefalee, bronşită. Formele uşoare şi medii de intoxicaţie se vindecă spontan. În formele grave se impune repaus absolut şi eventual oxigenoterapie. În toate cazurile există pericol de edem pulmonar tardiv, de aceea victima trebuie supravegheată medical.

Analiza toxicologică. Ozonul se cercetează din aer cu ajutorul hârtiilor indicatoare (KI şi amidon, coloraţie albastră, sau reactiv Griesz, coloraţie roz). Pentru dozare, se titrează I_2 eliberat de O_3 din KI, cu tiosulfat.

Sulful, S

Sulful este practic netoxic, însă unii dintre compuşii săi, H_2S, SO_2, SO_3 prezintă toxicitate. Metionina, unul dintre aminoacizii esenţiali, conţine, de asemenea, sulf.

Hidrogenul sulfurat, H_2S, etiologia intoxicaţiilor. Intoxicaţiile cu H_2S sunt profesionale, mai rar accidentale şi pot avea loc la prepararea şi întrebuinţarea H_2S şi a sulfurilor în industrie şi laborator, la degajarea H_2S ca produs colateral în numeroase procese tehnologice *sau* din apele reziduale ale acestor industrii.

BCU "LUCIAN BLAGA" CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Apare hidrogen sulfurat în procesele de descompunere a substanţelor organice (canale, puţuri, latrine, mine de cărbuni). H_2S este un poluant major al atmosferei.

Toxicocinetică. Hidrogenul sulfurat pătrunde, înprincipal respirator şi accidental transcutanat şi digestiv (ca soluţie). După absorbţie, o parte disociază (HS^-), iar restul rămâne ca atare; forma nedisociată străbate mai uşor membranele biologice. În ficat se oxidează sub acţiunea unor sulfoxidaze. De asemenea, poate fi inactivat de glutation (G-S—S-G) pe care-l reduce (GSH). Eliminarea are loc pulmonar (H_2S) şi renal (tiosulfat, sulfat, polisulfuri).

*Toxicodinamie.*Acţiunea toxică a H_2S sedatorează inhibării enzimelor oxidoreducătoare şi în special a citocromoxidazei, cu formarea unei combinaţii stabile cu fierul. De asemenea, H_2S reacţionează cu MetHb cu formare de sulfmethemoglobină, din care apoi H_2S este eliberat treptat pentru a fi inactivat. Deoarece H_2S are afinitate mai mare pentru MetHb decât pentru citocromoxidază, s-a propus inducerea methemoglobinemiei cu ajutorul nitritului, pentru ca MetHb să preia H_2S de la citocromoxidază, eliberând-o. Tot ca antidot s-ar putea folosi glutationul care activează H_2S datorită proprietăţii acestuia de a fi reducător. Acţiunea iritantă este legată de formarea cu ionii alcalini tisulari, a sulfurilor alcaline caustice. Prin ingerare, soluţia de H_2S este mai puţin toxică (se oxidează rapid). Concentraţia letală de H_2S este de 1 mg/litru aer.

Simptomatologie. În intoxicaţia supraacută, moartea se produce aproape imediat, prin paralizie respiratorie sau cardiacă, precedată de pierderea stării de conştienţă şi convulsii. Intoxicaţia acută debutează, la expunerea scurtă, prin keratoconjunctivită (prin afectarea structurilor polului anterior al globurilor oculari) cu fotofobie, lăcrimare şi dureri. Apoi apar fenomenele iritative respiratorii (rinită, tuse, dureri retrosternale, dispnee, pânăla edem pulmonar acut), nervoase (cefalee, ameţeli, somnolenţă, până la comă), digestive (salivaţie, greţuri, vărsături). În intoxicaţia cronică se observă tulburări generale (astenie, anorexie, pierdere ponderală) şi iritative (respiratorii şi oculare).

Primul ajutor. După evacuarea din mediul toxic, se aplică oxigenoterapie şi respiraţie artificială (procedeul „gură la gură" poate fi periculos pentru salvator). Se menţine intoxicatul în stare de repaus (risc de edem pulmonar tardiv). Ca antidot, se administrează fie nitrit de sodiu, 10 ml din soluţie 3%, i.v.

BUCUR CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

lent, repetat de încă două ori (deci în total 30 ml soluţie = 1 g nitrit), fie albastru de metilen, 5 ml de soluţie 1%, i.v. Primul ajutor pentru keratoconjunctivită constă în spălare cu multă apă a sacului conjunctival, instilare (o picătură de ulei comestibil, 2-3 picături de cocaină soluţie 1%, la dureri mari) şi 3-4 picături de adrenalină soluţie 1/1000 (la hiperemie puternică).

Analiză toxicologică. Hidrogenul sulfurat se cercetează din aer şi din sânge (păstrat nealterat). Identificarea se realizează cu hârtii indicatoare (cu săruri de metale grele H_2S dă sulfuri colorate). Dozarea se bazează pe reacţia cu *p*-fenilendiamina (în prezenţa Fe^{3+} şi HCl se formează tionina) sau pe reacţia cu *p*-dimetilfenilendiamina (în prezenţa Fe^{3+} şi HCl se formează albastrul de metilen).

Dioxidul de sulf, SO_2, etiologia intoxicaţiilor. Dioxidul de sulf poate determina intoxicaţii acute şi cronice în condiţiile de formare şi preparare (arderea sulfului sau a minereurilor, a cărbunilor, prepararea H_2SO_4, reducerea sulfaţilor), precum şi de întrebuinţare (agent frigorific, conservant, decolorant, pesticid). SO_2 este un poluant major al atmosferei.

Proprietăţi. Este un gaz incolor, d = 2,23, cu miros înţepător şi sufocant, solubil în apă, cu caracter reducător. În anumite condiţii atmosferice seoxidează la SO_3, care, cu vaporii de apă, trece în H_2SO_4; acesta rămâne în atmosferă ca aerosol, potenţând toxicitatea SO_2.

Toxicocinetică. Dioxidul de sulf pătrunde în organism pe cale respiratorie (SO_2 gazos şi /sau aerosoli de H_2SO_3) şi digestiv (soluţii de SO_3^{2-}). Se oxidează până la SO_4^{2-} şi se elimină urinar ca SO_3^{2-} şi SO_4^{2-}.

Toxicodinamie. Dioxidul de sulf este iritant datorită H_2SO_3 (format în contact cu mucoasele umede) şi corosiv datorită H_2SO_4 (rezultat din oxidarea parţială a SO_2 la SO_3 care, cu apa, trece în acid sulfuric, H_2SO_4). După absorbţie, SO_2 determină acidoză metabolică; scade rezerva alcalină din sânge şi, compensator, se elimină urinar amoniac. SO_2 este un toxic celular, provocând perturbări în metabolismele intermediare, prin inhibarea unor enzime şi spolierea organismului în vitaminele B şi C. De asemenea, deprimă hematopoieza (în doze mari) şi poate produce methemoglobinemie. Concentraţia letală este de 1,5 mg SO_2/litru aer şi 10-20 g sulfit.

Simptomatologie. Intoxicaţia acută are loc de obicei datorită unor avarii. La inhalare se observă, în raport cu concentraţia şi cu timpul de expunere, iritaţia

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

căilor respiratorii, a mucoasei nazale, a conjuctivei, apoi sufocare, disfonie (prin spasm laringian), tulburări de deglutiţie (prin spasm faringian), dispnee, cianoză, blefaroconjunctivită, leziuni cutanate. La concentraţii mari şi expunere prelungită se observă confuzie mintală, halucinaţii, comă. Intoxicaţia cronică se exprimă prin fenomene iritative (rinofaringită cronică, tuse, dispnee de efort, stomatită, conjunctivită) şi carii dentare.

Primul ajutor. După evacuarea din mediul toxic se menţine intoxicatul în repaus. Se tratează leziunile oculare prin spălare cu soluţie de bicarbonat 2% şi leziunile mucoasei nazale prin instilare a 2-3 picături de efedrină soluţie 2%.

Analiză toxicologică. Dioxidul de sulf se cercetează din aer cu ajutorul hârtiilor indicatoare (hârtia impregnată cu I_2 şi amidon se decolorează; iar cea impregnată cu nitroprusiat de sodiu şi $ZnSO_4$ se colorează în roz). Dozarea se efectuează nefelometric (SO_2 este oxidat la H_2SO_4 şi trecut în $BaSO_4$) sau spectrofotometric (SO_2 cu Na_2HgCl_4 formează complexul $Na_2[Hg(SO_3)_2]$, care cu pararozanilina şi CH_2O formează un compus trifenilmetanic, roz, colorimetrabil).

Seleniul, Se

Seleniul în organism, în cantităţi fiziologice, are un rol antioxidant (Schwarz şi Folz, 1957). Acest element este un constituient esenţial al glutation peroxidazei, enzimă ce catalizează descompunerea unei largi game de peroxizi şi care conţine patru atomi de seleniu în moleculă (Nakamura şi Hasoda, 1974).

Burk şi Masters (1975) au arătat că deficitul în seleniu micşorează rolul citocromului P_{450} în microzomii hepatici. După Diplock (1973) vitamina E ar stabiliza Se într-o formă selenit în centrii activi ai unor proteine conţinând fier neheminic. Erbicidul paraquat prezintă o toxicitate mai ridicată în cazul unui deficit de seleniu (Omaye şi colab., 1978).

Seleniul este un toxic moderat, însă seleniurile reactive, seleniţii şi seleniaţii solubili sunt deosebit de toxici. Seleniul poate pătrunde în organism mai ales prin respirarea vaporilor şi a prafului, dar şi prin piele; calea digestivă este secundară. Concentraţia maximă admisibilă este de 2 mg/m^3 aer.

Intoxicaţia acută se produce prin pătrunderea în organism a unor cantităţi mari de substanţă. Simptomele principale sunt iritarea ochilor, a mucoaselor căilor respiratorii, tuse, dispnee, guturai, pneumonie. Intoxicaţia cronică

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

determină conjunctivită, guturai cronic, dureri de cap, oboseală, anemie, tulburări intestinale, dermite. Seleniul este un toxic cumulativ cu localizare în organele vitale (rinichi, ficat, plămâni) din care se elimină lent.

Analiza toxicologică. Cu acidul sulfuric concentrat, seleniul dă o coloraţie verde. Dozarea se bazează pe reacţia cu o soluţie de azotat de mercur(I) în acid azotic cu care seleniul precipită sub formă de seleniat de mercur(I). Iodometric, seleniul acţionează asupra cianurii de potasiu formând selenocianura de potasiu; prin acţiunea bromului asupra selenocianurii se formează cianogen, dozabil iodometric. Seleniul mai poate fi transformat în bromuri volatile de către o soluţie bromhidrică de brom; bromurile volatile se distilează şi sunt reduse la seleniu cu bioxid de sulf sau clorhidrat de hidrazină. S-a mai propus complexarea seleniului(IV) cu ditizonă la pH<1 în soluţie micelară conţinând Triton X-100 (Soruraddin *et al.* 2011).

Grupa a V-a cuprinde elementele N, P, As, Sb şi Bi. *Azotul* este practic netoxic, fiind un gaz inert în condiţii atmosferice normale. În general, compuşii săi sunt toxici, gradul toxicităţii fiind dependent de structura acestora.

Amoniacul, NH_3, etiologia intoxicaţiilor. Amoniacul este un gaz incolor, cu gust arzător, miros caracteristic înţepător şi sufocant. Inhalarea de NH_3 gazos, ingerarea de NH_3 soluţie, stropirea cu NH_3 lichid sunt de obicei accidentale şi au loc în special în mediul industrial, dar uneori şi în mediul casnic. Riscul toxic există la degajarea în atmosferă a mari cantităţi de NH_3 (industria frigorifică, tăbăcării), sinteza NH_3 şi utilizările sale (prepararea Na_2CO_3, a sărurilor de amoniu, sinteza HNO_3 etc.), ingerare de soluţie de amoniac (confuzie, suicid). În atmosferă se găseşte NH_3 rezultat din putrefacţii. Concentraţia maximă admisibilă este de 30 mg/m^3 de aer.

Toxicocinetică. După pătrundere în organism, respirator, digestiv sau transcutanat, NH_3 se dizolvă în ţesuturile cu care vine în contact cu formare de NH_4OH, caustic. Absorţia este redusă. Parţial este neutralizat de H_2CO_3.

Toxicodinamie. Sub formă gazoasă, NH_3 este iritant şi caustic pentru mucoasele căilor respiratorii superioare (de la hiperemie la necroză), membrana alveolocapilară (edem pulmonar acut lezionar) conjunctive şi cornee (ulceraţii), tegumente (arsuri). Sub formă de soluţii (NH_4OH) se comportă ca hidroxizii alcalini caustici. Doza letală (ingerare) este de 10 ml NH_4OH. Concentraţia letală (inhalare) este de 3 mg NH_3/litru aer (3.000 ppm).

Simptomatologie. Intoxicaţia supraacută cunoaşte o evoluţie rapidă cu moarte prin asfixiere. În intoxicaţie acută (forma gravă) se disting: faza iniţială, de edem pulmonar acut şi insuficienţă cardiovasculară acută; faza de remisiune (aparentă), când radiologic apar semne de pneumopatie acută corespunzând infecţiei secundare a leziunilor chimice pe tractul respirator. În formele uşoare predomină conjunctivita acută, tuse, dispnee, arsuri retrosternale, dar există pericolul de edem pulmonar acut sau complicaţii pulmonare. Ingerarea de NH_3 determină arsuri ale mucoasei bucofaringiene, esofagiene, gastrice, edem glotic, uneori stenoză esofagiană. Contactul tegumentelor cu NH_3 lichid sau gazos (degajări masive) provoacă eritem şi arsuri.

Toxicologie analitică. Se folosesc tuburi Dräger 25/a. În aer, amoniacul se poate determina prin metoda volumetrică, recoltarea făcându-se într-o soluţie 0,02 N de H_2SO_4. Excesul de acid nereacţionat se titrează cu o soluţie de NaOH 0,02 N în prezenţa roşului de metil drept indicator. Metoda spectrofotometrică, care are la bază reacţia de culoare, pe care o dă în mediul alcalin ionul de amoniu, cu tetraiodomercuriatul de potasiu (reactiv Nessler), din care rezultă iodura de oxidimercuramoniu de culoare galben-brună.

Primul ajutor constă în scoaterea bolnavului din mediul toxic şi spălarea leziunilor caustice ale pielii şi mucoasei oculare cu cantităţi mari de apă şi apoi cu soluţie de borat de sodiu. Hainele udate cu amoniac vor fi dezbrăcate imediat. În caz de ingestie, se administrează per os cantităţi mari (2 l) de apă de robinet sau lapte, după care se provoacă vărsături. Se asociază cu administrare *per os* de sucuri citrice, acid acetic 3-5% sau limonada tartrică în cantităţi de minimum 2 l pentru 30 g amoniac. Se continuă cu emoliente cum ar fi apă de amidon, lapte cu ouă crude, ulei.

Fosforul, P4

Fosforul alb se prezintă ca o masă cristalină, transparentă, de consistenţa cerii. Are miros asemănător cu acela al usturoiului. Este uşor solubil în CS_2, PCl_3, PBr_3 şi în grăsimi. Este insolubil în apă şi în alcool. Fosforul alb emite o lumină slabă, vizibilă la întuneric (chimioluminiscenţă). Se topeşte la 44 °C şi fierbe la 280 °C la 760 mm Hg. Se aprinde spontan în aer. Concentraţia maximă admisibilă este de 0,05 mg/m^3 aer, iar doza letală, 0,1-0,3 g.

BCU CLUJ / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Consideraţii toxicologice. Fosforul alb este foarte toxic şi poate pătrunde în organism pe cale respiratorie, digestivă şi transcutanat. După pătrundere în organism, o fracţiune se oxidează şi se elimină renal, cealaltă fracţiune este transportată la organe unde acţionează toxic, apoi se elimină lent (este toxic cumulativ) prin fecale şi expiraţie. După absorbţie se manifestă ca un toxic celular şi al hematiilor.

Intoxicaţia acută se manifestă prin tulburări digestive violente, urmate de afectare hepatică (icter până la ciroză), renală (oligurie, anurie), nervoase (agitaţie, delir), hematice (anemie hemolitică).

Toxicologie analitică. Fosforul alb se identifică cu hârtie impregnată cu $AgNO_3$ când se formează Ag_3P, neagră. Dozarea se realizează prin captare în acid azotic (P se oxidează la PO_4^{3-}), iar determinarea PO_4^{3-} se face prin titrare cu acid molibdenic, când se formează complexul fosfomolibdenic, redus apoi la molibden albastru, colorimetrabil.

Arsenul, As. *Etiologia intoxicaţiilor.* Arsenul metaloid nu este toxic şi se găseşte constant în organism sub formă de impurităţi. Importanţă toxicologică prezintă unii compuşi anorganici ai As^{3+} şi As^{5+} care au variate întrebuinţări în industrie, agricultură şi farmacie. Cel mai important şi mai toxic este anhidrida arsenioasă (As_2O_3), o pulbere fină, amorfă, albă sau o masă sticloasă transparentă. Concentraţia maximă admisibilă este de 0,5 mg/m^3 aer. În intoxicaţiile profesionale, calea de pătrundere a toxicului în organism este cea respiratorie. Intoxicaţia acută se produce prin pătrunderea în corp a unei mari cantităţi de substanţă toxică. Simptomele se manifestă prin iritarea ochilor şi a mucoaselor căilor respiratorii, tuse, arsuri retrosternale şi dispnee, urmate de greţuri, vomă şi colici abdominale.

Intoxicaţiile acute şi cronice voluntare (crime, în trecut foarte frecvente cu As_2O_3, au fost facilitate de toxicitatea puternică, lipsa de culoare şi de miros, precum şi de uşurinţa procurării acesteia, caracteristici care au ocazionat şi intoxicaţii accidentale prin confuzie. S-au semnalat şi intoxicaţii alimentare (peşti, legume, fructe impurificate cu compuşi ai arsenului) sau terapeutice. O dată cu dezvoltarea industriei şi galvanotehnicii a crescut posibilitatea intoxicaţiilor acute şi cronice profesionale (la extragerea şi prelucrarea minereurilor şi la numeroasele întrebuinţări ale compuşilor cu As).

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Intoxicaţia cronică se manifestă prin conjunctivită, guturai cronic şi bronşită. Pielea se inflamează mai ales în părţile care transpiră mult, putând apărea şi ulceraţii. Apare uneori o culoare brună a pielii, precum şi căderea părului. Se mai pot manifesta dureri de cap, oboseală, nevrită optică şi acustică. Arsenul are actiune cancerigenă (cutanat) la contact prelungit.

Intoxicaţia supracută (la ingerare de 0,5-1,0 *g* AS_2O_3) se manifestă prin sindrom holeriform (senzaţie de sete, vărsături, diaree), apoi hipotensiune, lipotimie, oligurie, convulsii, delir, moarte (în primele 5-15 ore). Intoxicaţia acută prin ingerare (0,2 g As_2O_3) debutează prin fenomene digestive cu deshidratare, apoi cefalee, anxietate, facies cenuşiu, tendinţă de colaps. La inhalarea de mari cantităţi de pulberi, predomină fenomenele respiratorii (gripa arsenicală). După o ameliorare trecătoare, apar manifestări renale, cardiovasculare, nervoase, care pot conduce la moarte. În intoxicaţia cronică predomină manifestările nervoase (oboseală, polinevrite, modificări de comportament), digestive (anorexie, greţuri) şi cutanate (pigmentare de culoarea bronzului, hiperkeratoză palmară şi plantară, alopecie, striaţii cenuşii-albe pe unghii denumite şi dungile lui Mees). Starea generală alterată poate conduce la moarte.

Toxicocinetica. Pătrunderea în organism se realizează pe cale digestivă, respiratorie şi transcutanată. Rapiditatea absorbţiei este în funcţie de solubilitate, dar este în general lentă. În sânge, As se leagă de hematii (combinându-se stabil cu globina din Hb) şi mai puţin de albuminele plasmatice. Se distribuie în toate organele, dar se acumulează în tegumente, fanere osoase, unde persistă un timp; în fanere se găseşte chiar după dispariţia din organe (Arsenul este un toxic cumulativ). Eliminarea are loc lent prin urină, tegumente şi fanere.

Toxicodinamie. Toxicicitatea depinde de starea de oxidare (compuşii de As^{5+} devin toxici în urma reducerii lor în organism la As^{3+}) şi de solubilitate (compuşii mai solubili sunt mai toxici). Principala acţiune toxică este cea tioloprivativă. Inhibarea enzimelor tiolofore şi a transporturilor de hidrogen conduce la dereglarea respiraţiei tisulare şi a unor metabolisme intermediare. Compuşii cu As sunt toxici şi pentru capilare, ficat, SNC, sânge, iar pentru tegumente sunt iritanţi şi caustici, determinând ulceraţii şi pigmentare. La expunerea prelungită în mediul industrial, unii compuşi cu As s-au dovedit cancerigeni. La ingerarea unor doze mici şi crescânde se instalează fenomenul

BCU CLUJ CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

numit mitridatism, datorat micşorării absorţiei prin scădererea permeabilităţii intestinale (deci nu este un fenomen adevărat de toleranţă). Doza letală de ingerare este de 0,12-0,20 g As_2O_3.

Toxicologie analitică. As se cercetează din aer (recoltare printr-un filtru cu vată de sticlă şi dizolvarea pulberilor sau a aerosolilor reţinuţi în HCl diluat) şi medii biologice (evidenţiat prin reacţia Bougault, cu hipofosfit clorhidric). Dozarea se bazează pe formarea albastrului de molibden (cu molibdat de amoniu în mediu de acid sulfuric se formează complexul arseno-molibdat de amoniu, care prin reducere cu sulfat de hidrazină formează albastrul de molibden; interferă fosforul şi compuşii săi). Se mai utilizează metoda cu butilrodamin B. Metoda sensibilă şi specifică este cu dietilditiocarbamat de argint.

Primul ajutor. În caz de intoxicare, accidentatul va fi scos imediat din atmosfera poluată şi transportat într-o încăpere aerisită. În intoxicaţia prin ingestie, se recomandăs pălătură gastrică cu apă, apoi administrarea de lapte sau hidroxid feric coloidal (soluţie proaspătă), tiosulfat de sodiu 1%, soluţie de mercaptopropanol. Se pot administra *per os* soluţiile de mai sus şi apoi se provoacă vărsături. Se administrează purgative saline şi se cheamă medicul de urgenţă. La inhalare, se evacuează victima din mediul toxic şi se menţine în repaos la cald. Antidotul este dimercaptopropanol (DMP): în intoxicaţia gravă, 3 mg DMP/ kg corp intramuscular, timp de 2 zile, apoi după o schemă redusă; în intoxicaţia medie, 2 mg DMP/kg intramuscular, de 2 ori pe zi timp de 7 zile.

Stibiul, Sb

Intoxicaţiile cu stibiu sunt, în prezent, profesionale, la extragerea şi prelucrarea minereurilor, în topitoriile de aliaje, la prepararea şi utilizarea Sb, Sb_2O_5, Sb_2S_3, Sb_2S_5, (în industria caucicului, textilă, a coloranţilor etc.). În trecut, au fost semnalate intoxicaţii alimentare (prin smalţul vaselor conţinând Sb_2O_3 pus în libertate de acizii slabi alimentari), medicamentoase (cu tartrat de Sb şi K, emetic) şi, rareori, intenţionate.

Toxicocinetică. Pătrunderea stibiului în organism are loc pe cale respiratorie şi digestivă. După absorbţie, Sb^{3+} circulă legat de hematii, se distribuie în special în ficat şi se elimină prin fecale. Sb^{5+} circulă prin plasmă, este parţial redus la Sb^{3+}, devenind toxic. Fracţiunea neredusă se elimină urinar, relativ repede. Concentraţia maximă admisibilă este de 0,5 mg/m^3 aer.

Toxicodinamie. Toxicitatea stibiului constă în inhibarea enzimelor având ca efect dereglarea respiraţiei tisulare şi a unor metabolisme. Totodată, se manifestă ca un toxic agresiv al sistemului nervos central şi al sângelui.

Intoxicaţia acută prin ingerare se manifestă prin sindrom holeriform, ca şi în cazul arsenului, dar mai slab, iar la inhalare apar simptomele *febrei de fum*. Aceasta se produce prin ingerare (doza letală: 1 g Sb_2O_3) şi se se manifestă prin gust metalic în gură, vărsături, colici, diaree, iritaţia puternică a ochilor, a nasului şi a gâtului. Intoxicaţia cronică prin ingerare se exprimă prin eczema stibiată care apare şi la contactul tegumentar. La inhalare, se remarcă sindromul astenic, cel digestiv, precum şi iritaţia mucoaselor. Intoxicaţia cronică apare după o perioadă mai lungă de lucru cu stibiu şi determină o stare de oboseală, nervozitate, insomnie, tulburări ale digestiei, iritaţia mucoaselor, inflamaţii în gură şi în gât.

Primul ajutor. În caz de inhalare, se scoate victima din zona poluată şi se transportă într-o încăpere aerisită. În intoxicaţia prin ingerare, se aplică o spălătură gastrică cu apă de robinet, după care se administrează lapte sau soluţie albuminată, eventual purgative saline. Se anunţă medicul.

Toxicologie analitică. Combinaţiile stibiului se pot reduce în aparatul Marsh la hidrogen stibiat (SbH_3) care, disociat termic, depune o oglindă; aceasta nu se dizolvă în hipoclorit de potasiu sau, dizolvată în acid azotic, nu formează un precipitat colorat cu azotatul de argint

($4SbH_3 + 24Ag^+ + 6H_2O \rightarrow 24Ag + Sb_4O_6 + 24H^+$).

Compuşii stibiului se cercetează din medii biologice prin mineralizare, izolare ca Sb_2S_3 şi dizolvare în acid clorhidric. Identificarea Sb^{3+} se realizează prin reducerea la cald a acidului fosfomolibdic la albastru de molibden. Dozarea din aer se realizează spectrofotometric, când stibiul pentavalent formează cu rodamina B un complex colorat care, după extragere în benzen, este determinat spectrofotometric (oxidarea Sb se realizează cu acid percloric).

Hidrogenul stibiat, SbH_3

Analiza toxicologică. Hidrogenul stibiat se cercetează din aer prin aspirare în soluţie alcoolică de NaOH (se formează Sb; în aceleaşi condiţii AsH_3 dă arsenit) sau în soluţie acidă oxidantă (se formează Sb^{5+} care dă cu rodamina B o coloraţie violetă).

B.C.U. „M. EMINESCU" IAŞI CHIMIE

Bismutul, Bi

Compuşii cu bismut au fost utilizaţi în medicină, astfel încât intoxicaţiile au fost de natură terapeutică. Nu se cunosc intoxicaţii profesionale, întrucât toxicitatea acestor compuşi este relativ scăzută.

Toxicocinetică. Pătrunderea în organism se face pe cale digestivă şi parenterală. Ingerat, se regăseşte aproape în întregime în tubul digestiv, iar injectat, viteza de absorbţie depinde de solubilitate. După ce este reţinut un timp în ţesuturi, inclusiv cel osos, este eliminat prin urină şi fecale.

Toxicodinamie. Importanţa toxicologică a bismutului este minoră, întrucât toxicitatea sărurilor este redusă (doza letală pentru sublimat este de 8 g), iar aplicaţiile terapeutice sunt restrânse. Acţiunea toxică principală este tiolprivativă, cu dereglarea respiraţiei tisulare; intervine şi în metabolismul porfirinic şi în cel al calcifierii. Intoxicaţia se manifestă prin febră, vărsaturi, colici abdominale, stomatită, eventual nevrită. În intoxicaţia acută se practică spălătură gastrică, iar ca antidot DMP ca la arsen.

Analiza toxicologică. Bismutul se cercetează din mediile biologice (distrugere prin metoda Ogier, separare sub formă de Bi_2S_3, solubilizare în HNO_3. Identificarea Bi^{3+} se realizează prin reacţia Bettendorf sau Léger (ca iodobismutat de cinconină), metodă aplicată şi la dozarea acestui element.

***Grupa a IV*-a** a sistemului periodic (C, Si, Ge, Sn, Pb) cuprinde elemente cu o toxicitate extrem de diferită între ele. Mai mult, aici este inclus elementul carbon, ai cărui compuşi prezintă întreaga gamă de toxicitate. Se demonstrează astfel, o dată în plus, că toxicitatea atribuită unei substanţe depinde în primul rând de structura organismului intoxicat.

Carbonul, C

Carbonul ca element nu este un toxic propriu-zis. Inhalarea îndelungată de mari cantităţi de pulbere de cărbune, în minele de cărbune, cocserii, la prepararea negrului de fum, a grafitului, a electrozilor de cărbune poate determina antracoza, a doua pneumoconioză, ca frecvenţă, după silicoză. Pneumoconiozele sunt boli pulmonare cronice produse prin inhalarea prelungită de mari cantităţi de pulberi industriale fin dispersate, cărbune, SiO_2, silicaţi naturali, unele metale; se caracterizează prin fibroză pulmonară, cu atingere funcţională respiratorie şi repercusiune asupra cordului.

BCU IAŞI / CENTRALA UNIVERSITARĂ / LIBRARY

Se recunosc două forme de antracoză: forma simplă şi forma pseudotumorală. În formă simplă, pulberele fine de cărbune ajunse în plămâni sunt fagocitate (fără distrugerea fagocitelor), iar aglomerările de fagocite cu incluziuni de pulberi determină apariţia fibrelor reticulate, neoformate, şi constituite din noduli de cărbune, care în timp se înmulţesc. În forma pseudotumorală se supraadaugă o infecţie, când se manifestă şi un proces imunologic. Antracoza se manifestă prin bronşită, dureri toracice, dispnee de efort: în forma pseudotumorală, poate surveni, prin excavaţie, o expectoraţie neagră. Aspectul radiologic este caracteristic. Evoluţia este lentă, iar prognosticul, în formă simplă, mai favorabil decât în silicoză.

Siliciul, Si

Siliciul nu este nici el un toxic în adevăratul sens al cuvântului. Inhalarea prelungită a mari cantităţi de pulbere de siliciu sau bioxid de siliciu determină îmbolnăvirea plămânilor (silicoză). Pulberea fină de SiO_2 este fagocitată de macrofage, cu distrugerea rapidă a acestora, prin acţiunea SiO_2 asupra unor constituenţi citoplasmatici. Ca urmare, celula eliberează SiO_2 fagocitat. Procesul de fagocitare şi eliberare se repetă până când se acumulează numeroase fagocite la nivelul depozitelor de SiO_2, unde vor apărea noduli caracteristici. Depunerea acestor substanţe în plămâni determină o scleroză a ţesutului pulmonar şi tulburări fundamentale în procesele respiratorii, astfel încât oxigenarea sângelui nu se mai realizează în măsură suficientă, silicea se absoarbe lent în organism şi produce tulburări generale. Silicoza începe să se manifeste printr-o greutate în respiraţie, mai ales la eforturi, apoi printr-o tuse supărătoare şi astenie. În acelaşi timp, starea generală este proastă, bolnavul nu mai are poftă de mâncare şi uneori apar complicaţii la inimă. Dacă expunerea la toxic încetează, evoluţia bolii poate fi oprită, deşi unii autori au o părere diferită (Cotrău *et al.*, 1993). În caz contrar, silicoza progresează, apar complicaţii şi prognosticul poate deveni sever.

Germaniul, Ge

Germaniul nu este un toxic. Toxicitatea bioxidului de germaniu este mult mai slabă decât a trioxidului de arsen. Tetrahidrura de germaniu, GeH_4, provoacă moartea prin hemoglobinurie.

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Primul ajutor. La ingerare se aplică o spălătură gastrică cu suspensie de cărbune, urmată de administrare de purgativ salin. Ca antidot se recomandă $EDTACaNa_2$ şi se anunţă medicul.

Staniul, Sn

Staniul este un metal alb, strălucitor. Impurităţile de Pb, Sb, As îi dau un aspect gălbui. Structura cristalină a staniului alb are un aranjament compact. Staniul este un metal puţin reactiv. Faţă de aer şi apă, la temperatura obişnuită, staniul este stabil. Puţin peste punctul de topire se oxidează, transformându-se în oxid stanic, SnO_2. Staniul se utilizează la fabricarea tablei albe care serveşte mai ales la realizarea cutiilor de conserve alimentare.

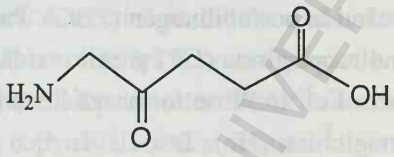
Toxicologie. Staniul ca atare nu este dăunător sănătăţii. Intoxicaţiile cu staniu sunt extrem de rare şi au loc mai ales la manipularea produsului fin divizat sau în stare topită. Pătrunderea în organism are loc pe cale respiratorie şi digestivă. Manifestarea toxicităţii după absorbţie este excepţională, căci sunt necesare doze mari, neîntâlnite în mod obişnuit în industrie. Intoxicarea se manifestă prin vomă, inflamarea tubului digestiv, hipotensiune şi slăbirea sistemului cardiac. Cantitatea maximă tolerată în alimente este de 300 mg/kg. Compuşii minerali ai staniului sunt puţin toxici, în schimb cei organici sunt mai toxici pentru organism.

Plumbul, Pb

Etiologia intoxicaţiilor. Plumbul pur este un metal alb-argintiu. La aer devine repede cenuşiu. Este cel mai moale dintre metalele uzuale. Vaporii de plumb sunt monoatomici. În prezenţa oxigenului, apa dizolvă mici cantităţi de plumb cu formare de hidroxid de plumb. Apa de băut obişnuită, care conţine carbonaţi acizi de calciu şi magneziu, precum şi sulfaţi, formează pe suprafaţa metalului un strat subţire şi dur de carbonat şi sulfat de plumb, care împiedică dizolvarea. De aceea, apa condusă prin ţevi de plumb poate fi băută fără pericol. In prezent se folosesc alte materiale în locul plumbului pentru transportul apei potabile. Concentraţia maximă admisibilă este de 0,1 mg/m^3 aer. Intoxicaţiile alimentare, acute şi cronice, au loc prin ingerare de alimente impurificate cu pesticide cu Pb, de băuturi alcoolice distilate artizanal în cazane cu conţinut de Pb, alimente (băuturi) preparate sau păstrate în recipiente cu conţinut de Pb

(plumbul se dizolvă chiar şi în acizii slabi alimentari). Intoxicaţiile accidentale propriu-zise se produc prin ingestie de săruri de plumb sau de tetraetilplumb, prin produse cosmetice, jucării, crete colorate, vopsele etc. Intoxicaţiile profesionale se întâlnesc în metalurgia plumbului, la turnarea aliajelor, la arderea vopselelor de Pb, la fabricarea, manipularea şi utilizarea $Pb(C_2H_5)_4$.

Tetraetilpiumbul, $Pb(C_2H_5)_4$ este un lichid uleios, cu d = 1,653, cu miros aromat, cu punct de fierbere de 200 °C, insolubil în apă, solubil în solvenţi organici şi lipide. Este folosit ca antidetonant în unele benzine. În scopul evitării depunerii în motor a PbO rezultat din descompunerea $Pb(C_2H_5)_4$ la 400 °C, lichidul antidetonant conţine şi bromură de etilen ($Br\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}Br$), care transformă PbO într-un compus al Pb evacuat împreună cu gazele de eşapament.



δ–Aminolevulinic acid (δ–ALA)

Toxicocinetică. Plumbul şi compuşii săi anorganici pătrund în organism pe cale digestivă şi respiratorie. După ingerare, compuşii insolubili sunt parţial solubilizaţi în stomac ($PbCl_2$, mai solubilă) şi în intestin (colaţi de plumb), fiind în parte absorbiţi. Fracţiunea neabsorbită, ca şi fracţiunea nesolubilizată sunt eliminate prin fecale. Plumbul absorbit ajunge în ficat, o parte intră în circulaţia generală, iar altă parte în bilă, cu care se elimină prin fecale. Inhalarea de pulberi, aerosoli sub 5 milimicroni conduce la absorbţie completă, cu trecerea directă în circulaţie. În sânge, se află 2% din totalul de plumb din organism dintre care 90% în hematii şi 10% în plasmă. O parte din plumbul plasmatic este legat de proteinele plasmatice, cealaltă parte este difuzabilă, aceasta fiind forma activă, toxică. Localizarea plumbului se face în ficat, rinichi, sistem reticulo-histocitar. Cu timpul, plumbul se redistribuie, acumulându-se în cortexul osos dens ca fosfat de plumb tribazic insolubil, astfel încât majoritatea plumbului din organism se găseşte în oase, de unde se mobilizează uneori (Cotrău, 1990). Eliminarea plumbului are loc prin urină (filtrare glomerulară şi probabil secreţie tubulară a fracţiunii difuzabile), precum şi prin fecale, bilă, salivă, fanere. Tetraetilplumbul pătrunde în organism respirator şi transcutanat (accidental

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

digestiv). Se absoarbe rapid şi se acumulează în ţesuturile grase, în special în cele din SNC. Prin dezalchilare parţială trece în trietil de plumb, $Pb(C_2H_5)$, mai toxic decât tetraetilplumbul. Mai departe, acesta din urmă se metabolizează până la plumb anorganic, care îşi urmează calea proprie. Tetraetilplumbul se elimină sub formă organică şi anorganică.

Toxicodinamia. Plumbul şi compuşii săi anorganici manifestă hemato-, neuro-, vasculo-, şi nefrotoxicitate. Cea mai cunoscută manifestare toxică a plumbului, dar nu şi cea mai gravă, este interferarea în biosinteza hemului. Acidul acetic trece, prin intermediul ciclului Krebs, în acid succinic. Acidul succinic activat de CoA se uneşte cu glicocolul activat de piridoxal, formând acidul delta-aminolevulinic (delta-ALA). Două molecule de delta-ALA se condensează, conducând la porfobilinogen (PBG). Patru molecule de de PBG se condensează formând uroporfirina (CP) şi prin oxidarea acesteia, protoporfirina (PP). Prin încorporarea Fe^{2+} în PP se formează hemul, iar din unirea acestuia cu globina rezultă hemoglobina (Hb). Etapele 1, 5, 6 au loc în mitocondrii, iar etapele 2, 3, 4, în citoplasmă. Blocarea sigură a lanţului porfirinic sub acţiunea plumbului, prin inhibarea enzimelor corespunzătoare tiolofore, are loc la nivelul formării PBG din acidul delta-aminolevulinic şi al încorporării Fe^{2+} în hem, iar blocarea posibilă, la nivelul formării acidului delta-aminolevulinic şi al transformării CP în PP. Plumbul interferă de asemenea în biosinteza globinei. Ca urmare, apar creşteri ale delta-ALA şi ale fierului în ser, ale PP în eritrocite, a porfirinelor în urină, precum şi scăderea Hb şi deci a eritrocitelor (anemie saturniană). Plumbul alterează şi membrana eritrocitară prin acţiune toxică directă asupra lipotroteinelor din structura ei şi prin inhibarea ATP-azei. Ca urmare, are loc creşterea fragilităţii eritrocitelor, cu micşorarea duratei de viaţă medie, ceea ce determină hemoliza intravasculară. La nivelul SNC, unde plumbul staţionează un timp, acţiunea toxică se exprimă prin encefalopatie saturniană apărută la expuneri masive de plumb. Plumbul are concomitent şi o acţiune toxică asupra vaselor (cu spasm, creşterea permeabilităţii vasculare, hemoragii perivasculare, edem cerebral). La nivelul nervilor periferici, plumbul determină degenerarea mielinei din structura axonilor, rezultând nevrita motorie. La nivelul rinichilor tulburările ar fi consecinţa inhibării unor dehidrogenaze mitocondriale şi a dereglării degradării acidului piruvic.

Tetraetilplumbul este liposolubil şi se fixează în ţesuturile lipoide (ficat, creier, ţesut adipos). Metabolitul său, $Pb(C_2H_5)_3$, deprimă metabolismul energetic cerebral prin inhibarea glicolizei şi a sintezei de ATP. Pătrunderea rapidă în SNC şi dezalchilarea parţială mediată nu permite tetraetilplumbului să acţioneze asupra sintezei hemului, astfel încât modificările biologice observate în intoxicaţia cu plumb nu sunt prezente şi în intoxicaţia cu tetraetilplumb.

Simptomatologie. Prin ingerarea de compuşi anorganici de plumb (intoxicaţia acută) apare iritaţie gastrointestinală (arsuri în gură, faringe, greţuri, vărsături, diaree). După intrarea plumbului în circulaţia sanguină apare colica saturniană (spasme vasculare intestinale şi modificări de tonus intestinal), manifestări nervoase (stare depresivă, parestezii, convulsii) şi renale. Inhalarea unor mari cantităţi de pulberi determină un tablou clinic asemănător: manifestări digestive, colică saturniană, manifestări nervoase şi renale. Intoxicaţia acută cu tetraetilplumb conduce la encefalopatie saturniană cu manifestări de tip delirant, maniacal sau schizofrenic, convulsii, comă şi moarte. În formele uşoare şi medii se observă insomnie sau somn agitat, cefalee, astenie, anorexie, transpiraţii, salivaţie exagerată, tremor. În intoxicaţia cronică cu plumb sunt două etape: absorbţia crescută şi intoxicaţia cronică propriu-zisă (saturnismul). Absorbţia crescută de plumb are loc în mediul industrial atunci când între cantitatea de plumb inhalată (ingerată), depozitare şi eliminare se stabileşte un echilibru. Absorbţia crescută de plumb se evidenţiază prin creşterea concentraţiei de plumb, eliminarea plumbului prin fecale, creşterea eliminării urinare de CP şi a δ-ALA, ca şi a PP în hematii, prezenţa hematiilor cu granulaţii bazofile (resturi ale constituienţilor citoplasmatici din hematia imatură, formate în urma acţiunii toxice directe a plumbului), apariţia lizereului gingival Burton (o coloraţie albăstruie ce apare la marginea liberă a gingiei, datorată PbS, rezultat al acţiunii H_2S din putrefacţia alimentară asupra Pb eliminat prin salivă). Intoxicaţia cronică (saturnismul) se manifestă prin astenie, tulburări de somn, cefalee, iritabilitate, parestezii ale extremităţilor, simptome dispeptice (anorexie, dureri epigastrice, constipaţie) şi pseudoreumatice (dureri articulare). Paralizia membrelor, encefalopatia şi colica se întâlnesc mai rar în intoxicaţia cronică profesională.

Primul ajutor. În intoxicaţia acută cu compuşi de plumb anorganic prin ingerare se practică spălătura gastrică cu soluţie de $NaHCO_3$ 1% sau de $MgSO_4$

1%. După spălătură se lasă în stomac 30 g $MgSO_4$ dizolvat în 300 ml apă. Antidotul este $EDTACaNa_2$ şi se administrează perfuzabil lent , 25-50 ml/kg în cure de 4-5 zile alternând cu pauze de 3-4 zile; doza totală/24 ore este de 2-3 g. Se poate administra $EDTACaNa_2$ şi oral, 2-3 g/24 ore. Riscul acestui antidot este declanşarea insuficienţei renale acute prin mobilizarea plumbului din depozite şi excreţie crescută. DMP nu este indicat întrucât formează cu Pb un complex toxic. Se administrează antispastice contra durerilor abdominale.

Profilaxie. Se aplică primul ajutor carateristic oricărei intoxicaţii. Se foloseşte echipament de protecţie.

Analiza toxicologică. Plumbul se cercetează din aer (recoltare în HNO_3), sânge, urină (distrugere cu $KMnO_4$) şi organe (distrugere sulfonitrică, izolare ca $PbSO_4$,apoi ca PbS şi solubilizare în HNO_3). Identificarea Pb^{2+} se face sub formă de $PbSO_4$, PbI_2. Dozarea se bazează pe spectofotometrie (Pb dă cu ditizona, la pH 9-10, un complex roşu). Cantitativ, poate fi precipitat ca $PbCrO_4$ de culoare galbenă. Se mai poate determina polarografic sau prin spectrofotometrie de absorbţie atomică.

Plumbul poate fi complexat cu o sare solubilă a acidului pirolidinditiocarbonic, PDTC-NH_4(Na). La pH 2,0-2,5, se extrage cu metil-izobutil-cetonă. Extractul organic se injectează în atomizator, determinându-i-se absorbţia în comparaţie cu un etalon. Domeniul optim de lucru este de 1-10 μg Pb în cantitatea de probă introdusă în aparat.

Tetraetilplumbul se determină în aer (alonjă cu cărbune activ), oxidare cu HNO_3 pentru eliberarea Pb şi dozare cu ditizonă. Porfirinele urinare (UP şi CP) se determină spectrofotometric (E_{max} 405 nm pentru UP şi 401 nm pentru CP). δ-ALA şi PBG urinare se separă pe coloană schimbătoare de ioni şi se dozează cu reactiv Erlich.

Elementele grupei a III-a prezintă un interes toxicologic de asemenea diferenţiat, în funcţie de reactivitatea individuală a elementului studiat şi de compuşii în care acesta se găseşte.

Borul, B

În intoxicaţia acută cu acid boric şi boraţi se observă tulburări digestive şi cutanate, iar în formele grave, moarte precedată de bradicardie, cianoză,

BCU IAŞI / CENTRALA UNIVERSITARĂ

hipertermie, delir. Intoxicaţia acută se manifestă prin tulburări digestive şi cutanate moderate. Intoxicaţia acută cu diboran se manifestă prin edem pulmonar, iar cu boranii superiori, prin tulburări neuropsihice, afecţiuni hepatorenale, urmate, în cazuri grave, de convulsii şi de pierderea conştienţei.

Analiza toxicologică. Acidul boric se cercetează din mediile biologice (extracţie apoasă, alcalinizarea filtratului, decolorare, filtrare la cald). Identificarea se realizează cu hârtie de Curcuma (filtratul uşor acidulat, culoare brună; la alcalinizare, culoare violet); $AgNO_3$, dă un precipitat de borat de argint); chinalizarină (albastru), formarea boratului de metil (care arde cu flacără verde).

Aluminiul, Al

Aluminiul sub formă de lingouri, bare sau laminate nu are efecte toxice asupra organismului. Pulberea de aluminiu, inhalată în cantităţi mari, determină scleroză pulmonară. În cantităţi foarte mari, sărurile de aluminiu pot provoca iritaţii gastrointestinale, dermite de contact şi astm bronşic (Şunel *et al.*, 1993).

Taliul, Tl

Taliul pătrunde în organism digestiv, respirator şi transcutanat. În sânge este repartizat egal între plasmă şi hematii. Se acumulează în organele nelipoide (în special în foliculul lipos, glande salivare, rinichi). Eliminarea taliului se realizează lent. Taliul şi sărurile sale sunt deosebit de toxice. Doza letală este de 0,5-2,0 g. Taliul este un toxic cumulativ care îşi exercită acţiunea asupra SNC, glandelor endocrine, foliculului pilos. Se admite că toxicitatea generală este legată de metabolismul cisteinei (prin blocarea grupelor SH sau împiedicarea trecerii sale în metionină). Efectul alopeciant s-ar datora acţiunii generale asupra SNV şi glandei tiroide şi acţiunii locale directe asupra foliculului pilos, asemănătoare razelor X.

Intoxicaţia acută se caracterizează printr-o perioadă de latenţă, după care survin tulburările digestive, urmate de tulburările neuropsihice (algii, pareze ale membrelor inferioare, depresie sau agitaţie, insomnie, delir, convulsii), pigmentarea rădăcinii părului în negru, striaţii albe pe unghii, tulburări respiratorii, oculare şi, în final, alopecie. Moartea survine prin stop cardiac sau respirator. În caz de supravetuire rămân sechele neurologice. Intoxicaţia cronică

BUASVM CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

prezintă aceleaşi simptome, dar mult atenuate. Primul ajutor la ingerare constă în spălătură gastrică cu suspensie de cărbune sau soluţie de KI 10%. Administrarea timp de câteva zile de $Na_2S_2O_3$ 10%, 10 ml intravenos, ar insolubiliza toxicul sub formă de Tl_2S, iar de KCl 3-5 g/zi oral, ar favoriza eliminarea urinară a taliului.

Analiza toxicologică. Taliul se cercetează din aer (recoltare în HNO_3) şi medii biologice (distrugere sulfonitrică, reducerea Tl^{3+} la Tl^+, izolarea acestuia ca Tl_2S, solubilizarea în H_2SO_4). Identificarea se realizează prin colorarea flăcării în verde, formarea de TlCl, Tl_2CrO_4 sau oxidarea Tl^+ la Tl^{3+} şi tratarea acestora cu rodamină B. Metoda se pretează şi pentru dozare.

Grupa a II-a a sistemului periodic cuprinde elemente cu toxicitate remarcabilă (Be, Ba), alături de elemente benefice organismului în doze biologice normale (Ca, Mg) şi de elemente radioactive (Ra).

Beriliul, Be

Intoxicaţiile cu beriliu sunt profesionale şi au loc la extragerea sa din minereuri (beril, crisoberil), la fabricarea aliajelor pentru aeronautică, în industria atomică (serveşte ca sursă de neutroni, deoarece este elementul care cedează cel mai uşor neutronul), la fabricarea lămpilor şi a pulberilor fluorescente.

Pătrunderea în organism se face pe cale respiratorie, secundar digestivă şi transcutanată. După ce îşi exercită acţiunea toxică la nivel pulmonar, este absorbit şi vehiculat de PO_4^{3-} plasmatic şi distribuit în organe. Acumularea are loc la nivelul plămânilor, a ficatului şi a oaselor. Viteza de eliminare este în funcţie de solubilitatea compusului. Beriliul elementar este netoxic, însă compuşii săi sunt toxici. După absorbţie, Be^{2+} intră în competiţie cu Mg^{2+}, inhibând enzimele activate de acesta (fosfatazele). BeO este cancerigen. Intoxicaţia acută prin inhalare (îndeosebi BeO) debutează prin febra de fum, urmată de pneumonie gravă. Febra de fum se datoreşte unui proces imunologic general de particule submicroscopice de BeO, care se încarcă electric, devenind mobile şi pătruzând în alveolele pulmonare, le lezează membrana. Prin denaturare proteică ia naştere o proteină străină organismului, care produce şocul proteinic din febra de fum. Concentraţia toxică este de 0,1 mg/m^3 de aer.

Intoxicaţia cronică, berilioza considerată altădată drept pneumoconioza (simptomele şi examenul radiologic sunt asemănătoare silicozei), prezintă un mecanism alergic; letalitatea, înainte de corticoterapie, era de 20-30%. Contactul cutanat determină dermite alergice, ulcerţii granuloame.

Primul ajutor constă în oxigenoterapie şi repaus, urmate de corticoterapie.

Toxicologie analitică. Beriliul se cercetează din medii biologice. După mineralizare sulfonitrică, se coprecipită cu $BaCl_2$ şi se izolează ca $BeCl_2$. Identificarea Be^{2+} se realizează prin spotul portocaliu obţinut cu *p*-nitrobenzen-azo-orcinol. Dozarea se bazează pe fluorescenţa verzuie obţinută cu morina (tetrahidroxi-flavonol) în mediu alcalin sau spectrofotometric cu berilion II (Cotrău *et al.*, 1993).

Magneziu, Mg

Praful de magneziu, inhalat în cantitate mare, poate produce iritaţii ale ochilor, nasului şi gâtului, care în general sunt de mică importanţă. În schimb rănile, tăieturile sau arsurile în contact cu magneziul şi aliajele sale devin dureroase şi se vindecă greu. Concentraţia maximă admisibilă este de 100 mg/m^3de aer.

Bariul, Ba

Intoxicaţiile profesionale au loc la prepararea aliajelor cu bariu şi la utilizarea sărurilor sale. După pătrundere pe cale digestivă sau respiratorie şi absorbţie, Bariul formează în sânge proteinaţi labili. Se localizează trecător în muşchi şi apoi ireversibil în oase. Eliminarea sărurilor insolubile are loc rapid prin fecale. Sărurile de bariu solubile sau solubilizate în sucul gastric sunt toxice: $BaCO_3$, $BaCl_2$, BaS, $Ba(NO_3)_2$, $Ba(CH_3COO)_2$, iar $BaSO_4$ este netoxic. Bariul îşi exercită efectul toxic asupra celulei musculare, provocând excitaţie. Ca urmare, apare contracţia musculaturii netede (ceea ce explică vărsăturile) şi a musculaturii striate (cu apariţia convulsiilor). Cordul se opreşte în sistolă. Acţiunea toxică s-ar datora perturbării permeabilităţii şi polarităţii membranare, cu dezechilibrul transferului de K^+, Na^+, Ca^{2+}. Doza letală este de 2 g pentru $BaCl_2$ şi 3-4 g pentru $BaCO_3$.

Simptomatologia din intoxicaţia acută este nespecifică şi constă în manifestări digestive (vărsături, colici), nervoase (convulsii, pareze), circulatorii (risc de colaps cardiovascular), respiratorii (dispnee, asfixie). Intoxicaţia cronică prin inhalare (baritoza), este o pneumoconioză benignă. Primul ajutor în

BUCHAREST CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

intoxicaţia prin ingerare constă în favorizarea vărsăturilor şi aplicarea antidotului (5% Na_2SO_4 în spălături gastrice şi $MgSO_4$ ca purgativ (precipită $BaSO_4$ şi provoacă purgaţie).

Analiza toxicologică. Bariul se cercetează din aer (recoltare în HCl) şi din medii biologice (distrugere sulfonitrică, topire alcalină, separare şi solubilizare în HNO_3 diluat). Identificarea Ba^{2+} se realizează prin precipitare ca $BaSO_4$, $BaCrO_4$, rodizonat de Ba. Dozarea se efectuează iodometric (Ba^{2+} precipită ca $BaCrO_4$, iar $H_2Cr_2O_7$ rezultat prin dizolvare în HCl se determină iodometric).

Metale de tranziţie

Seria Sc-Zn este o grupă de elemente ce cuprinde Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu şi Zn, fiind caracterizată prin însuşiri fizico-chimice asemănătoare. De pildă, raza atomică (Å) este 1,27 pentru Cr, 1,26 pentru Fe şi Mn, 1,25 pentru Co, 1,24 pentru Ni şi 1,38 pentru Zn. Volumul atomic (cm^3/atg) se menţine de asemenea în limite strânse: 6,6 la Ni până la 7,39 la Mn. Zincul are un volum atomic relativ mai ridicat (9,2). Electronegativitatea este de asemenea apropiată (1,5-1,9). În aceste condiţii ne-am aştepta, dacă admitem o periodicitate inclusiv a proprietăţilor toxicologice, ca aceste elemente să prezinte o toxicitate similară, ceea ce nu este adevărat.

Cromul pătrunde în organism pe cale respiratorie, mai rar digestivă. Cr^{6+} se fixează pe albuminele plasmatice. Se depozitează în ficat, splină, rinichi şi se elimină renal şi digestiv. Compuşii ce conţin ionii Cr^{3+} şi Cr^{6+} sunt iritanţi şi alergizanţi. După absorbţie, sunt caustici, emetizanţi şi methemoglobinizanţi. Cr^{6+} poate determina, în timp, la muncitorii expuşi, cancere bronhopulmonare. Doza letală este de ordinul gramelor.

Intoxicaţia acută la inhalare se exprimă prin iritaţie respiratorie, până la edem pulmonar. Concetraţia maximă admisibilă este de 15 mg/m^3 aer. Ingestia poate determina gastroenterită toxică, urmată de nefrită acută. Intoxicaţia cronică se manifestă prin iritaţie nazală (până la perforaţie de sept), faringiană, oculară, bronşică. Contactul cu tegumentele determină dermite eczematiforme şi ulcerul de crom caracteristic, plasat pe faţa dorsală a mâinilor. Cromul se cercetează din aer şi medii biologice (mineralizare sulfonitrică şi oxidarea Cr^{3+} la Cr^{6+}). Identificarea CrO_4^{2+} se face prin precipitare cu Ba^{2+} şi Pb^{2+}, iar a cromaţilor prin reducere la Cr^{3+}, verde. Dozarea se realizează spectrofotometric, prin reacţia Cr^{6+}

cu difenilcarbazidă în mediu acid cu formarea unui compus roşu violet colorimetrabil.

Manganul pătrunde în organism mai ales prin respiraţie. În sânge formează compuşi labili cu albuminele. Se depozitează electiv în ficat, rinichi, plămâni, creier. Se elimină lent prin fecale şi bilă, mai puţin prin urină. Intoxicaţiile cronice sunt determinate mai ales de MnO_2, iar cele acute de $KMnO_4$. Compuşii manganului sunt iritanţi şi corozivi. După absorbţie, produc alterări degenerative ale celulei nervoase cu manifestări neurologice de tip parkinsonian. Toxicitatea $KMnO_4$ se datorează caracterului său oxidant şi caustic, precum şi ionului K^+, depresant al muşchiului cardiac. Doza letală de $KMnO_4$ este de 5 g. Concentraţia maximă admisibilă în aer este de 0,5 mg/m^3 aer. Inhalarea Mn poate genera pneumonie manganică, prin infectarea epiteliului bronşic şi alveolar lezat chimic de pulberea de MnO_2, pneumoconioză prin inhalarea pulberii de Mn, intoxicaţie cronică, în care predomină manifestări neurologice ireversibile (tremor, disartrie, disgrafie, paralizie progresivă a membrelor inferioare) şi uneori psihice. La ingerarea $KMnO_4$ se observă lezarea tractului digestiv, precum şi tulburări cardiovasculare şi respiratorii.

Primul ajutor în intoxicaţia cu $KMnO_4$ constă în spălătură gastrică cu tiosulfat de sodiu 2%, care îl transformă în $Mn(OH)_2$.

Identificarea şi dozarea Mn^{2+} se realizează colorimetric, după oxidare la Mn^{7+}. Metoda se bazează pe oxidarea Mn^{2+} la Mn^{7+} cu persulfat de amoniu în prezenţa ionilor de argint drept catalizator şi fotometrarea soluţiei la λ 525-545 nm.

Dozarea complexometrică prin titrare cu o soluţie standard de complexon III, folosind ca indicatori eriocrom T, violet de pirocatehină sau flurexon.

Cobaltul pătrunde în organism pe cale respiratorie şi digestivă. După absorbţie, 70% se elimină prin colon, iar 30% se localizează în unele organe, de unde se elimină lent. Compuşii cobaltului sunt iritanţi şi alergizanţi. Vitamina B_{12} (ciancobalamina) este utilizată în terapia anemiei pernicioase. Pentru manifestarea toxicităţii sunt necesare doze masive. S-a observat totuşi hipotensiune datorită acţiunii asupra simpaticului şi poliglobulie, prin stimularea eritropoiezei. La apariţia cancerelor la muncitorii expuşi, intervin şi alţi factori. Contactul cu sărurile de cobalt poate determina dermite. Intoxicaţia cronică se

BCU "CAROL I" CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

manifestă prin eczemă alergică, iritarea mucoaselor, conioză (boală provocată de pătrunderea şi fixarea pulberilor în organism).

La inhalarea masivă de pulberi sau la ingerarea sărurilor solubile în tratamentul anemiei se constată hipotensiune, convulsii, dureri abdominale, hemoragii digestive. Cobaltul se cercetează din medii biologice prin mineralizare sulfonitrică sau nitroperclorică, izolare sub forma CoS, solubilizare sub formă de sulfat. Identificarea Co^{2+} se realizează cu NH_4SCN (colorație albastră), cu acid rubeanic (ditiooxamidă-colorație galben-brună). Dozarea se face spectrofotometric cu alfa-nitrozo-beta-naftol şi 3, 6-disulfonat de sodiu.

Nichelul are o acţiune toxică moderată asupra SNC şi miocardului (doza letală parenteral este 10-15 mg săruri/kg) datorită inhibării unor fosfataze. În aer, concetraţia maximă admisibilă este de 0,5 mg/m^3. La muncitorii expuşi la sărurile acestui element se remarcă apariţia dermitelor (râia de nichel) şi incidenţa crescută a cancerelor. Nichelul se cercetează din aer, sânge sau urină (mineralizare ca la Mn). Identificarea şi dozarea se realizează prin reacţia cu dimetilglioximă în mediu alcalin (colorație roşie). Dozarea nichelului se mai poate efectua prin titrare cu soluţie standard de complexon III 10^{-2} M folosind ca indicator murexidul sau violetul de pirocatehină.

Nicheltetracarbonilul, $[Ni(CO)_4]$, este cel mai toxic compus al nichelului. Este un lichid incolor, volatil, inflamabil, instabil, insolubil în apă, solubil în solvenţi organici. Acesta pătrunde în organism prin respiraţie şi, secundar, transcutanat. Se descompune în Ni coloidal şi CO, apoi Ni se depozitează parţial în unele organe. Eliminarea este renală. Acţiunea toxică se exercită la nivelul plămânilor (epiteliul alveocapilar), sistemului nervos, suprarenalelor (epiteliul capilar), cu provocare de edem şi hemoragii. Toţi carbonilii metalici prezintă acest efect toxic datorită întregii molecule care are un caracter tiolopriv şi reducător. În intoxicaţia acută se remarcă faza iniţială cu cefalee, stare ebrioasă, tuse, dispnee, cianoză, faza de latenţă de 12-48 ore şi faza de agravare, cu modificări respiratorii grave (până la edem plmonar) şi nervoase (delir, convulsii, uneori edem cerebral) adesea mortale. În expunerea cronică se observă dermite şi o incidenţă crescută a cancerului pulmonar. Ca antidot se foloseşte ditiocarb.

Cuprul dă intoxicaţii prin inhalare. Concentraţia maximă admisibilă este de 0,1 mg/m^3 (aerosoli) şi 1 mg/m^3 (praf). După ingerare sau inhalare, cuprul

BCU CLUJ / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

absorbit este vehiculat de albuminele plasmatice, apoi fixat în unele organe. Eliminarea este lentă, renală. Compuşii insolubili sunt practic netoxici, iar cei solubili, toxici. Local, sărurile de cupru sunt iritante pentru tegumente şi mucoase. În doze ridicate, sunt paralizante ale muşchilor, determinând paralizie, stop cardiac şi respirator. De asemenea, sunt methemoglobinizante şi hemolitice. Intoxicaţia acută prin ingerare se manifestă prin tulburări digestive (greţuri, vărsături colorate în albăstrui, colici) şi nervoase (lipsa de coordonare a mişcărilor, convulsii). La inhalare, apar simptomele din febra de fum. Intoxicaţia cronică se manifestă prin greţuri, tuse, lizereu gingival verzui, iritaţia mucoasei oculare.

Primul ajutor în caz de ingerare a ionilor de cupru constă în spălătură gastrică cu suspensie de cărbune. Ca antidot se aplică EDTA-$CaNa_2$. Cuprul se cercetează din aer şi medii biologice (mineralizare sulfonitrică, separare sub formă de CuS, solubilizare în HNO_3). Identificarea se realizează prin metoda Spacu care constă în formarea complexului galben, $CuPy_2(SCN)_2$, cu dietilditiocarbamat (complex galben), prin metoda Galea (complex albastru de salicilat de piridină). Cu ditizonă 0,05% în cloroform şi în mediu slab acid se formează ditizonatul de cupru, violet. Din aer, cuprul se poate doza spectrofotometric.

Zincul, la fel ca şi fluorul, iodul, seleniul, cuprul, molibdenul, cromul, este un microelement. În mediul industrial au loc intoxicaţii acute (febra de fum sau febra turnătorului), prin inhalarea aerosolilor de ZnO formaţi la încălzirea Zn peste 500 °C. Concetraţia maximă admisibilă în aer este de 10 mg/m^3. Zincul pătrunde în organism prin respiraţie şi prin sistemul digestiv, iar absorbit, circulă în sânge sub formă de complecşi cu globulinele. Depozitarea are loc în hematii, creier, muşchi, piele. Se elimină preponderent prin fecale. După absorbţie, acţiunea zincului şi a compuşilor săi se manifestă la nivelul SNC, a muşchilor, sistemului cardiovascular. Doza letală este de 3-6 g ($ZnCl_2$) şi 5-10 g ($ZnSO_4$). Intoxicaţia acută cu săruri solubile se manifestă prin iritaţia mucoasei faringiene, dureri epigastrice, diaree, tremurături şi pareze. Primul ajutor în intoxicaţia acută constă în spălătură gastrică cu suspensie de cărbune şi administrare de emoliente. Zincul se determină din aer şi medii biologice (mineralizare sulfonitrică, izolare ca ZnS, solubilizare în HNO_3). Identificarea Zn^{2+} se

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

efectuează prin reacţia Montequi sau cu ferocianură de potasiu, metodă care se pretează şi la dozare.

Din studiul toxicologic al elementelor chimice care au şi importanţă industrială, reiese faptul că periodicitatea însuşirilor fizico-chimice ale acestora nu se extinde şi asupra gradului lor de toxicitate şi a mecanismelor de intoxicare. Acest aspect sugerează implicarea mai profundă a organismului viu în actul intoxicării şi importanţa reacţiilor sale faţă de noxă. În general, organismele vii prezintă sisteme de protecţie şi de eliminare a noxelor, dovadă că, în cursul evoluţiei lor pe Pământ s-au separat treptat de anumite elemente şi combinaţii chimice sau, poate mai exact, s-au dezvoltat numai acolo unde mediul înconjurător, prin structura şi compoziţia sa, le permitea.

O serie de elemente se comportă ca microelemente, sunt indispensabile în doze mici funcţionării organismului, însă devin toxice în concentraţii înalte. Alte elemente, cum ar fi plumbul, mercurul etc., sunt toxice în orice concentraţii. Alte elemente, cum ar fi bariul, înlocuiesc elementele chimice proprii organismului, datorită structurii lor asemănătoare cu acestea, fără a fi capabile să le îndeplinească şi funcţiile fiziologice din corp. Organismul viu îşi selectează elementele şi combinaţiile de care are nevoie şi le evită pe celelalte. Acolo unde acest lucru nu se poate realiza, apare efectul nociv şi se desfăşoară fenomenele descrise în toxicologie.

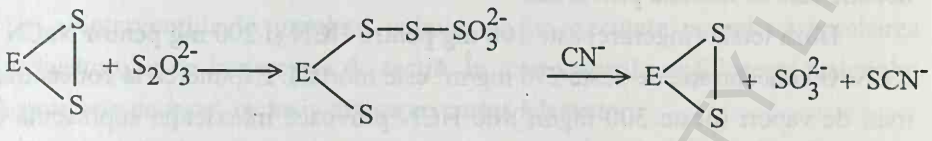
Compuşi chimici toxici

Elementele chimice prezintă un anumit grad de toxicitate, dar combinaţiile acestora se comportă diferit, în funcţie de structura lor chimică, reactivitate faţă de substrat şi de biostructura organismului cu care intră în contact.

Acidul cianhidric, HCN

Toxicocinetică. Acidul cianhidric este un compus chimic deosebit de toxic, dar care, în cantităţi mici, se găseşte şi în organismul uman. Fumătorii au un conţinut mai ridicat de acid cianhidric în sânge decât nefumătorii. Acest compus se absoarbe rapid pe cale respiratorie (sub formă de gaz), transcutanat (mai lent) şi digestiv. Cianurile alcaline pătrund prin ingerare şi transcutanat (acţiune corozivă asupra tegumentelor care favorizează pătrunderea). Se distribuie în toate ţesuturile, dar nu se acumulează. Metabolizarea majoră (80%)

se realizează prin detoxifiere la SCN^- sub acţiunea rodanazei (tiosulfat: cian-sulftransferaza). Se admite că sulful provine din aminoacizii sulfuraţi, dar cedarea sulfului se realizează prin intermediul tiosulfatului; de asemenea, rodanaza are o grupare disulfură activă.



Eficienţa reacţiei de detoxifiere este limitată de cantitatea redusă de rodanază din organism. Căile secundare de metabolizare (20%) includ: reacţia cu cisteina; oxidarea la HCNO, apoi la CO_2; hidroliza la HCOOH; formare de ciancobalamină. O fracţiune limitată se elimină ca atare pe cale respiratorie.

Toxicodinamie. Toxicitatea acidului cianhidric se datorează în primul rând capacităţii ionului CN^- de a inhiba un număr mare de enzime tisulare şi în special citocrom *c* oxidaza, împiedicând astfel utilizarea oxigenului molecular de către celule în procesul de respiraţie celulară. În prima fază a lanţului respirator are loc transferul atomului de hidrogen, H şi a ionului H^+ de la substrat, astfel încât speciile reduse NADH + H^+ şi NADPH + H^+ cedează doi ioni de hidrogen, apoi doi electroni pentru a reduce citocromii din lanţul respirator. Este redus mai întâi citocromul b, care reduce, la rândul său citocromii c şi, în final, „citocromoxidaza" (cit.a + cit.a_3). Aceasta reacţionează cu oxigenul activat determinând apoi reacţia acestuia cu 2 H^+ pentru a forma apă. Are loc astfel transferul electronilor (e^-) cu ajutorul citocromilor, într-o ordine dependentă de potenţialul lor redox de la NADH sau NADPH către oxigenul molecular legat de citocrom *c* oxidază. NADH se formează în ciclul Krebs sau ciclul acidului tricarboxilic plecând de la acetil CoA. Ionul cian inhibă citocrom c oxidaza prin blocarea Fe^{3+} şi întrerupe astfel lanţul respirator. În acest fel, se împiedică utilizarea oxigenului de către celule, ceea ce conduce la asfixie celulară. Inhibarea enzimelor celulare determină asfixia celulară. Sângele rămâne saturat în oxigen, ceea ce explică culoarea roşie-vişinie a pielii în intoxicaţia acută fatală cu HCN. Complexul cian-citocromoxidază disociază pe măsură ce CN^- este detoxifiat la SCN^-. Ionul cian se combină şi cu hemoglobina, dar în proporţii foarte mici, lipsite de importanţă toxicologică. Acesta reacţionează cu MetHb cu

formare de CNMetHb (cianmethemoglobină); MetHb are afinitate mai mare pentru CN^- decât ciancromoxidaza, iar CNMetHb este mai puţin toxică decât CN^-. Dacă doza nu este fatală, ionul CN^- este eliberat progresiv de către citocromoxidază sau methemoglobină şi transformat în tiocianat, compus netoxic care se elimină prin urină.

Doza letală (ingerare) este 100 mg pentru HCN şi 200 mg pentru NaCN şi KCN. O concentraţie de peste 270 mg/m^3 este mortală. Expunerea la concentraţii mari de vapori (peste 300 mg/m^3) de HCN provoacă intoxicaţia supraacută cu evoluţie mortală în câteva minute. Intoxicatul prezintă ameţeli, palpitaţii şi dispnee, urmate de comă, convulsii, stop respirator şi stop cardiac. Expunerea la concentraţii mari, între 150 şi 300 mg/m^3, provoacă intoxicaţia acută, curabilă. Primele semne constau în gust amar, senzaţie de sufocare, ameţeli, dureri intense de cap, slăbiciune musculară şi stare confuzională, la care se adaugă hipersalivaţie, greaţă, vărsături şi dispnee.

Această simptomatologie dispare dacă victima părăseşte locul accidentului. Expunerea la concentraţii mici de HCN (25-65 mg/m^3) provoacă cefalee, vărsături, tulburări de echilibru şi uneori confuzie mintală. Fenomenele dispar în câteva ore după ce bolnavul a părăsit mediul poluat. Inhalarea HCN în doze subletale (sub 20 mg/m^3) este curabilă numai dacă intoxicatul a fost scos imediat din mediul toxic şi dacă tratamentul s-a aplicat cât mai repede posibil, chiar la locul accidentului.

Recomandări tehnice:

- persoanele care urmează să lucreze cu HCN trebuie să fie instruite asupra pericolelor la care sunt expuse;
- trebuie să existe în dotarea laboratorului sau secţiei suficiente aparate pentru protecţia respiraţiei;
- este necesar ca încăperile în care se lucrează cu HCN să fie înzestrate cu un sistem de detectare automată şi semnalizare a concentraţiilor nocive, precum şi un număr suficient de aparate de tip „Dräger" pentru detectare;
- instalaţiile în care se produce HCN să fie perfect etanşe;
- ventilaţia din laboratoarele sau încăperile de lucru trebuie să fie foarte eficace;
- încăperile în care se pot acumula cantităţi mai mari de HCN, trebuie să fie prevăzute cu o instalaţie de stropire cu apă pentru captarea vaporilor de HCN;

- apele reziduale şi de spălare trebuie tratate înainte de a fi deversate în sistemul de canalizare. Distrugerea HCN în industrie se poate efectua prin introducerea clorului cu adăugare simultană de alcalii sau prin reacţie cu alcalii şi săruri de fier. Procesul trebuie controlat prin analize, menţinându-se un pH de minimum 11;

- intervenţiile în instalaţii trebuie să fie executate numai cu aprobarea conducătorului de lucrare sau de secţie. În toate cazurile se foloseşte materialul de protecţie necesar, inclusiv masca cu cartuş adecvat;

- înainte de intervenţie, toate componentele instalaţiei vor fi spălate cu o mare cantitate de apă. Dacă se folosesc alcalii, locul se va neutraliza cu acid diluat şi apoi se va spăla cu o mare cantitate de apă caldă;

- fumatul, utilizarea luminii deschise şi a flăcărilor vor fi strict interzise;

- instalaţia electrică din laboratoarele de lucru va fi de tipul antiex;

- spaţiile de lucru vor fi prevăzute cu duşuri şi dispozitive de spălare a ochilor prin pulverizare cu apă.

Primul ajutor:

- intervenţia de prim ajutor comportă extremă urgenţă;
- accidentatul va fi scos imediat din zona contaminată şi dus într-o încăpere caldă şi bine ventilată;
- îndepărtarea hainelor şi decontaminarea tegumentelor cu apă şi săpun;
- inhalarea imediată de nitrit de amil, o fiolă pe compresă; operaţia se repetă din 5 în 5 minute, cel mult 20 minute;
- se va evita asfixierea prin căderea limbii, sau cu resturi alimentare etc.;
- în caz de stop respirator se face respiraţie artificială cu oxigen pur (este contraindicată respiraţia gură la gură), concomitent cu inhalarea de nitrit de amil 1 fiolă (pe compresă), care se repetă din 5 în 5 minute, cel mult 20-25 minute;

În intoxicaţia prin ingestie se va proceda astfel:

- inhalarea imediată de nitrit de amil, o fiolă pe compresă; operaţia se repetă din 5 în 5 minute, cel mult 25 minute;
- spălătură gastrică cu $KMnO_4$ 1/5000, H_2O_2 3% şi $Na_2S_2O_3$ 1%;
- când spălătura gastrică nu este posibilă, se recomandă ingerarea de cantităţi mari din aceleaşi soluţii, urmată de provocarea de vărsături;
- administrarea de purgative saline;

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

- oxigenoterapie;
- se va anunţa medicul care va conduce mai departe tratamentul necesar.

Analiza toxicologică:

- hârtie indicator bazată pe reacţia de formare a ferocianurii ferice albastre;
- detectare cu tuburi indicatoare Dräger;
- dozare argentometrică. Se recoltează aerul într-un vas absorbant care conţine o soluţie de $AgNO_3$ N/20 acidulată cu HNO_3, efectuându-se apoi dozarea gravimetric sau volumetric prin metoda Volhardt;
- dozarea colorimetrică a izopurpurinei formate prin captarea acidului cianhidric într-o soluţie de acid picric şi alcalinizare cu Na_2CO_3. Compararea se face cu o scară etalon artificială de bicromat de potasiu;
- metoda bazată pe transformarea în bromcian şi apoi aldehidă glutaconică, urmată de cuplarea cu acid barbituric şi spectrofotometrare;
- reacţia Schönbein – hârtia îmbibată cu soluţie de $CuSO_4$ şi tinctură de guaiac se colorează în albastru;
- reacţia Castaldi – hârtia îmbibată cu soluţie de acetat cupric şi benzidină se colorează în albastru;
- din medii biologice (corpuri delicte) se izolează prin distilare în mediu de acid tartric; se captează distilatul în NaOH şi se identifică CN^- prin reacţia Liebig (formarea tiocianatului feric), şi prin reacţia Chelle (formarea albastrului de Prusia).

Numeroase teste propuse de noi se bazează pe reacţia ionului cian cu ninhidrina în mediu uşor alcalin (pH 10) când se obţine un compus roşu intens, colorimetrabil (Drochioiu, 2002; Drochioiu *et al.*, 2004; Surleva & Drochioiu, 2013 etc.). Iniţial, am utilizat acidul picric la dozarea cianurilor din diverse medii (Drochioiu *et al.*, 2000). In prezent, reusim cu astfel de motode sensibile să detectăm ionul cian la nivel de părţi pe bilion, metodele fiind de asemenea şi foarte specifice.

Nitrobenzenul, $C_6H_5NO_2$

Nitrobenzenul este un lichid uleios, d = 1,2, gălbui, cu miros de migdale amare, volatil (punct de fierbere 211 °C), puţin solubil în apă, solubil în solvenţi organici. Concentraţia maximă admisibilă este de 5 mg/m^3 aer.

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Toxicocinetică. Nitrobenzenul pătrunde în organism pe cale respiratorie, transcutanată şi, rareori, digestivă. Este metabolizat la nitrozobenzen, fenilhidroxilamină şi anilină sub acţiunea reductazelor NADH- şi NADPH-dependente microzomiale, hidroxilare la nucleu conducând la compuşi fenolici in echilibru cu *p*-chinonmonooxima şi *p*-chinonimina.

Din cantitatea absorbită, 50% se elimină pulmonar nemodificat, 25% urinar ca *p*-aminofenol şi *p*-nitrofenol, ambii sulfo-şi glucuronoconjugaţi.

Toxicodinamie. Principalele acţiuni toxice ale nitrobenzenului şi metaboliţilor săi sunt:

- Acţiunea methemoglobinizantă (methemoglobina se obţine prin oxidarea Fe^{2+} din hemoglobină la Fe^{3+}). În mod normal, în organism există un echilibru între MetHb existentă în concentraţie de 2% raportat la Hb totală) şi Hb. Reconversia MetHb la Hb necesită donori de electroni, prin care Fe^{3+} trece în Fe^{2+}:

$$\text{MetHb} \underset{-e^-}{\overset{+e^-}{\rightleftharpoons}} \text{Hb}$$

- NADP (format în cursul glicolizei) trece un e^- pe MetHb prin intermediul acceptorului diaforaza;

- NADPH (format în cursul oxidării glucozei pe calea şuntului pentozic) trece un e^- pe MetHb prin intermediul acceptorului MetHb-reductaza;

Glutationul redus (GSH) transformă H_2O_2 (prezentă în mici cantităţi în hematii) în H_2O; altfel, H_2O_2 în exces ar oxida Hb la MetHb. Aceşti donori sunt reprezentaţi în figura 1.

În prezenţa oxidanţilor, acestea desprind un e^- şi trec Fe^{2+} în Fe^{3+} cu o viteză care depăşeşte capacitatea de reducere a donorilor de electroni; ca urmare, apare methemoglobinemia. Hb este transportor de oxigen, deoarece formează cu acesta $HbFe^{2+}O_2$ (oxiferohemoglobină). Dimpotrivă, MetHb nu este transportor de oxigen, deoarece formează $HbFe^{3+}OH$ (hidroxiferihemoglobina) unde a treia valenţă a fierului este blocată cu gruparea –OH şi, în consecinţă, apar hipoxemie şi hipoxie.

BCU IASI GENERAL UNIVERSITY LIBRARY

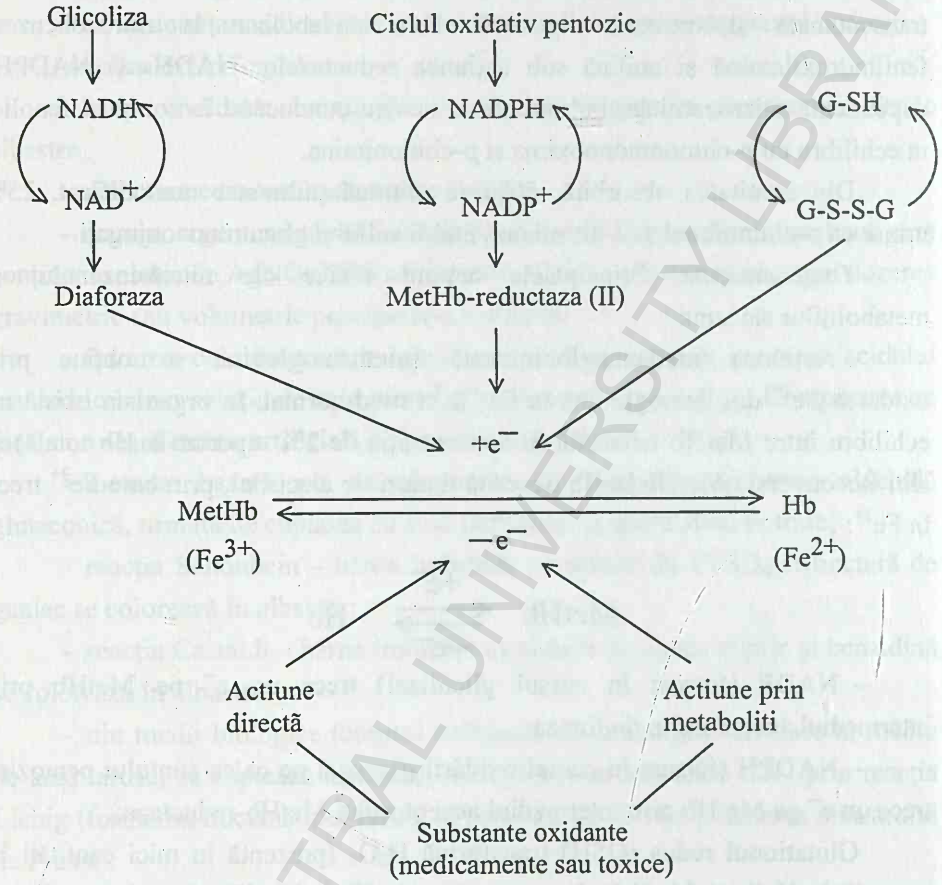


Figura 1. Echilibrul methemoglobină-hemoglobină

Acţiunea hemolitică: la methemoglobinemie masivă se produce liza hematiilor, cu eliberarea Hb în stroma globulară şi trecerea ei în plasmă. Hb plasmatică nu transportă oxigenul şi este nefrotoxică (precipită în tubulii renali). Datorită afinităţii pentru proteine, fenilhidroxilamina (şi, posibil, şi alţi intermediari din biotransformarea nitrobenzenului) degradează ireversibil Hb prin desprinderea hemului, denaturarea globinei (prin reacţie cu grupările SH şi S-S) şi încorporează un atom de sulf în ciclurile pirolice ale hemului; apar sulfhemoglobina şi verdoglobina.

BCU CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

- Acţiunea neurotoxică (deprimarea SNC) se datorează nitrobenzenului (liposolubil) şi anoxiei determinate de methemoglobinemie.

- Acţiunea cardiotoxică se manifestă asupra fibrei miocardice şi a sistemului de conducere şi se explică prin afinitatea fenilhidroxilaminei pentru proteinele tisulare, ca şi prin anoxie.

- Acţiunea hepatotoxică se explică prin afinitatea metaboliţilor nitrobenzenului pentru proteinele tisulare.

- Acţiunea iritantă şi sensibilizantă prin delipidare, rezultând dermatoze şi acţiune indirectă alergică (prin metaboliţii cu afinitate pentru proteine) asupra tegumentelor şi mucoaselor respiratorii, determinând reacţii alergice cutanate şi respiratorii. Doza letală la ingerare este de 1-2 g.

Simptomatologie. Intoxicaţia acută conduce la cianoză datorită methemoglobinemiei. Dacă MetHb depăşeşte 15%, apare cianoza extremităţilor. La 15-40% MetHb intervine anoxia (cefalee, ameţeli, dispnee). Peste 40% MetHb apar anxietate, astenie, greţuri, tahicardie, tulburări audio-vizuale şi de echilibru. Peste 75% MetHb se instalează depresiunea centrală, cu deces practic inevitabil. Tardiv, dacă victima supravieţuieşte, se manifestă consecinţele hemolizei (nefropatie tubulo-renală, icter hemolitic, anemie hemolitică). La ingerare apar şi tulburări digestive. Contactul cutanat determină dermatoze. *Intoxicaţia cronică* se manifestă prin tegumente palide, sindrom astenovegetativ, tulburări digestive, afectare hepatorenală.

Primul ajutor constă în spălătură gastrică cu suspensie de cărbune, urmată de purgativ salin. La inhalare, se face apel la spălare abundentă cu apă şi oxigenoterapie. Se administrează albastru de metilen.

Toxicologie analitică. Nitrobenzenul se cercetează din aer sau medii biologice (antrenare cu vapori de apă în mediu de acid tartric şi extragere cu eter, apoi reducere cu Zn şi HCl la anilină, eliberarea anilinei-bază prin alcalinizarea mediului şi identificarea/dozarea acesteia.

Nitrobenzenul se mai poate determina polarografic şi spectrofotometric, prin reacţia de formare a unui azoderivat de culoare portocalie, folosind ca reactiv de cuplare N-(1-naftiletilendiamina)-hidroclorică.

Din urină, se extrage metabolitul conjugat cu eter, după hidroliză.

BCU "AUREL VLAICU" UNIVERSITY LIBRARY

Methemoglobina se determină prin dozarea ei pe baza absorbţiei caracteristice la 630 nm, apoi se transformă MetHb în cianmethemoglobină (CNMetHb) şi se măsoară absorbţia acesteia de asemenea la 630 nm. În paralel se dozează Hb totală prin tratare cu fericianură şi apoi transformare în CNMetHb.

Anilina, $C_6H_5NH_2$

Anilina este un lichid incolor, uleios, care devine galben până la brun la aer şi la lumină. Are un miros puternic, caracteristic. Este puţin solubilă în apă, dar solubilă în solvenţi organici. Concentraţia maximă admisibilă este de 5 mg/m^3 aer.

Toxicocinetică. Anilina pătrunde în organism respirator, transcutanat şi digestiv. După absorbţie, se distribuie în ţesuturile lipoide. Se metabolizează prin oxidare la fenilhidroxilamină, care se izomerizează parţial la p-aminofenol, excretat urinar ca sulfo- şi glucuronoconjugat. Faptul că biotransformarea anilinei conduce la metaboliţi comuni cu cei ai nitrobenzenului explică efectele toxice asemănătoare ale celor două substanţe. O fracţiune din anilină se N-acetilează.

Toxicodinamie. Anilina se caracterizează prin acţiune methemoglobinizantă, hemolitică şi neurotoxică. Se admite şi o acţiune cancerigenă la nivelul vezicii urinare, care însă s-ar datora în special impurităţilor (benzidina şi β-naftilamina). Local, anilina este iritantă şi necrozantă: doza letală este de 1-2 g.

Simptomatologie. În *intoxicaţia acută* se observă aceleaşi manifestări ca la nitrobenzen: cianoză şi consecinţele hipoxiei (cefalee, greţuri, vărsături, confuzie, vertije, dezorientare, somnolenţă, stupoare, comă). În plus apare iritaţia căilor urinare şi a vezicii. În cazurile grave intervin tulburări cardiovasculare, insuficienţă renală acută şi moarte prin stare de şoc. *Intoxicaţia cronică* se exprimă prin tulburări neurovegetative şi afectare hepato-renală.

Primul ajutor. La ingerare se aplică spălătură gastrică cu soluţie de $KMnO_4$ 1/10000, apoi purgativ salin; în rest, măsurile indicate la nitrobenzen. Profilaxia presupune măsurile generale de protecţie.

Toxicologie analitică. Anilina se determină din aer (recoltare în HCl diluat sau H_2SO_4 0,01 N) şi medii biologice (distilare sau antrenare cu vapori de apă în mediu alcalin şi extragere cu solvenţi organici). Identificarea se face prin

reacţia Hoffmann (ca izonitril), reacţia moveinei (cu hipoclorit), reacţia Jacquemin (cu fenol şi hipoclorit) sau prin reacţia de diazotare şi cuplare. Se dozează prin reacţia Jacquemin. De asemenea, se poate folosi metoda spectrofotometrică cu cloramină T şi fenol când se obţine o coloraţie albastră a cărei intensitate este proporţională cu cantitatea de anilină din probă. Pentru dozare, se mai face apel la metoda titrimetrică cu soluţie bromat-bromură.

Sulfura de carbon, CS_2

Sulfura de carbon este o substanţă volatilă (punct de fierbere 46 °C), incoloră, cu miros eterat. Este inflamabilă, explozivă, insolubilă în apă, miscibilă în solvenţi organici.

Toxicocinetică. Sulfura de carbon pătrunde în corp pe cale respiratorie şi, uneori, transcutanat şi digestiv. Din cantitatea inhalată, marea majoritate se elimină respirator, restul este vehiculat de hematii şi distribuit în ţesuturile grase. Majoritatea sulfurii de carbon absorbite este metabolizată la compuşi organici şi anorganici cu sulf.

Toxicodinamie. Această substanţă acţionează asupra sistemului nervos şi a metabolismului. Sulfura de carbon acţionează ca antimetabolit al piridoxaminei, cu formare de compuşi ditiocarbamici, ceea ce explică deficienţa în vitamina B_6 în intoxicaţiile cu această substanţă (figura 15). Carenţa în vitamina B_6 determină scăderea formării acidului nicotinic din triptofan, sinteza fiind deviată spre derivaţi xanturenici. Acidul nicotinic este un component al coenzimelor NAD şi NADP, astfel încât sunt perturbate respiraţia celulară, glicoliza, sinteza acizilor graşi, dependente de aceste coenzime. Sulfura de carbon reacţionează cu grupările NH_2 proteice, rezultând derivaţi ditiocarbamici şi tiazolidone, chelatează Zn, Mn, Cu, Mg, Co, inhibând enzimele cărora aceste metale le servesc drept cofacturi, cu dereglarea consecutivă a unor metabolisme. Doza letală este de 10 ml, iar doza toxică prin inhalare 2-3 mg/l.

Simptomatologie. În *intoxicaţia acută* se produce „beţia sulfocarbonică" şi apar manifestări neuropsihice (agitaţie, halucinaţii, delir), apoi stupoare, comă şi moarte. *Intoxicaţia subacută* prezintă cefalee, oboseală, urmate de psihoză maniaco-depresivă (impulsivitate, accese de furie, insomnie, halucinaţii, depresii). *Intoxicaţia cronică* se manifestă prin sindrom astenovegetativ urmat de lezarea organică a SNC cu manifestări de tip encefalopatie toxică şi/sau

BUASVM CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

polinevrită senzitivo-motorie; uneori este afectat nervul optic. Mai apar simptome digestive, endocrine (suprarenale, gonade), vasculare (ateroscleroză cerebrală şi renală).

Contactul pielii cu sulfura de carbon poate provoca iritaţii şi uneori chiar forme de leziuni eczematoase (Figura 2).

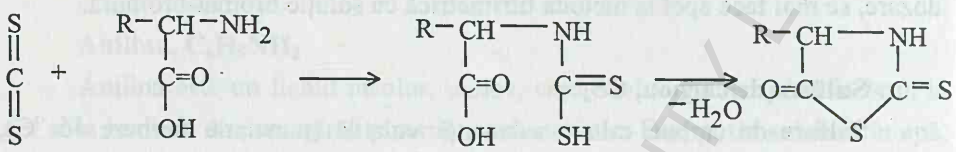


Figura 2. Efectele toxice ale sulfurii de carbon determinate de inhibarea piridoxaminei şi ale grupărilor aminoproteice

Primul ajutor constă în spălătură gastrică cu suspensie de cărbune şi purgativ salin, iar la inhalare şi contact, decontaminare prin spălare cu apă şi oxigenoterapie şi/sau respiraţie artificială.

Toxicologie analitică. Sulfura de carbon se recoltează din aer în soluţii alcoolice de amine secundare. Din medii biologice, se antrenează cu vapori de apă sau cu un curent de aer şi fixare în soluţie alcoolică de amine secundare. Identificarea se realizează prin formarea xantogenatului cupros galben sau prin reacţia cu amine secundare (formare de ditiocarbamat cupric galben), care se pretează şi la dozare. La persoanele expuse, se cercetează dietilditiocarbamaţii, metaboliţi ai CS_2 prin testul iodazidei (acest compus catalizează reacţia de reducere a iodului de către azida de sodiu). Se mai pot utiliza tuburi Dräger special calibrate pentru CS_2.

Bibliografie

Brunton, L., Parker, K., *Goodman & Gilman's Manual of Pharmacology and Therapeutics*, McGraw-Hill Medical, New York / Chicago / San Francisco / Lisbon / London / Madrid / Mexico City / Milan / New Delhi / San Juan / Seoul / Singapore / Sydney / Toronto, 2008.

Cotrău, M., *Toxicologia substanţelor organice*, Editura Ministerul Industriei Chimice – Pentru uzul intern al unitatilor M.I.Ch., Bucureşti, 1985.

Drochioiu, G., Druţă, I., *Toxicologie*, Editura Tao, Suceava, 1999.

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Drochioiu, G., Arsene, C., Murariu, M., Oniscu, C., *Analysis of Cyanogens with Resorcinol and Picrate*, în *Food and Chemical Toxicology*, 46, 2008, p. 3540-3545.

Drochioiu, G., Mangalagiu, I., Avram, E., Popa, K., Dirtu, A.C., Druta, I., *Cyanide Reaction with Ninhydrin: Evaluation of Interference and Mechanisms*, în *Analytical Sciences*, 20, 2004, p. 1443-1447.

Drochioiu, G., *Highly Selective and Sensitive Reaction of Cyanide with 2,2-dihydroxy-1,3- indanedione*, în *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 372 (5-6), 2002 p. 744-747.

Drochioiu, G., *Fast and Highly Selective Determination of Cyanide with 2,2-dihydroxy-1,3-indanedione*, în *Talanta*, 56 (6), 2002, p. 1163-1165.

Drochioiu, G., Murariu, M., Mangalagiu, I., Druta, I., *Highly Selective Assay of Proteins in Dilute Solutions*, în *Talanta*, 56 (3), 2002, p. 425-433.

Drochioiu, G., Mangalagiu, I., Tataru, V., *Specific Spectrophotometric Determination of Hydrocyanic Acid in the Environment*, în *Analyst*, 125, 2000, p. 939-941.

Soruraddin, M.H., Heydari, R., Puladvand, M., Zahedi, M.M., *A New Spectrophotometric Method for Determination of Selenium in Cosmetic and Pharmaceutical Preparations after Preconcentration with Cloud Point Extraction*, în *Int. J. Anal. Chem*, 2011, p. 1-8.

Surleva, A., Drochioiu, G., *A Modified Ninhydrin Micro-assay for the Determination of Total Cyanogens in Plants*, în *Food Chemistry*, 2013 (forthcoming). FOODCHEM-D-12-01478R3.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

4. Toxicologia mediului şi agricultura

Toxicologia mediului sau ecotoxicologia este o ştiinţă relativ nouă derivată de la ecologie şi toxicologie şi care se referă la procesele biochimice fundamentale din mediu (sol, apă şi aer) sub acţiunea poluanţilor şi a altor substanţe utilizate în mediu, cum ar fi pesticidele. Chimia şi biochimia au un rol important în studiile ecologice. Numai în ultimele decenii s-a conturat un domeniu interdisciplinar bine definit între chimie, biochimie, ecologie şi toxicologie. Importante sunt relaţia dintre structura chimică, reacţiile şi soarta în mediu a diferiţilor poluanţi cum ar fi pesticidele şi poluanţii organici. Ecotoxicologia sau toxicologia mediului acoperă tematica fundamentelor ecologice necesare înţelegerii răspunsurilor la nivel de sistem, caracteristicile şi implicaţiile expunerii la chimicale a mediului şi efectele biologice asupra speciilor terestre şi acvatice incluzând abordarea nivelelor înalte de organizare biologică şi oferă strategii de activitate ecotoxicologică vizând stabilirea riscurilor ecologice.

Ecotoxicologia îşi propune să rezolve probleme importante cum ar fi comportarea poluanţilor în ecosisteme; pătrunderea poluanţilor organici în ecosisteme; transportul poluanţilor în mediu; comportarea poluanţilor organici faţă de organismul viu etc. De asemenea, această ramură importantă a ştiinţei mediului studiază posibilităţile de evidenţiere a substanţelor toxice în mediu şi utilizarea biomarkerilor. Sunt studiate şi efectele biochimice ale poluanţilor, efectele lor la nivel fiziologic, interacţiunile dintre poluanţi, efectul poluanţilor asupra populaţiilor şi comunităţilor, evoluţia rezistenţei la poluare, schimbări în comunităţi şi ecosisteme sub acţiunea contaminanţilor şi se realizează managementul riscului.

Poluanţii organici persistenţi

Poluanţii organici persistenţi (POP) din produsele alimentare au devenit o problemă de sănătate, deşi nu sunt la fel de devastatoare ca malnutriţia şi

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

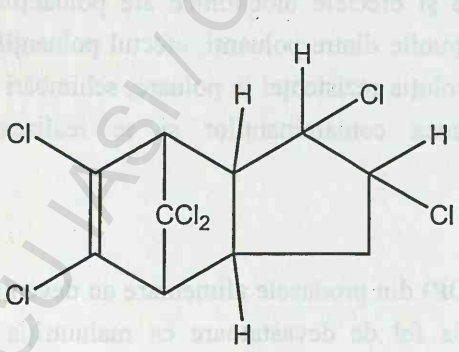
obezitatea (Hansen, 2002). Concentraţia POP ar trebui să fie strict menţinută sub control, iar Convenţia de la Stockholm impune reducerea globală a fabricaţiei şi a utilizării POP. Efectele endocrine ale POP pot depăşi importanţa deficienţelor nutriţionale. Costurile de îngrijire medicală sunt uimitoare. Reacţia populaţiei interesată mai ales de obţinerea hranei decât de diminuarea capacităţii de muncă şi a stării de sănătate, poate fi contradictorie şi poate determina soluţii aberante, cum ar fi utilizarea agricolă a pesticidelor POP ilegale.

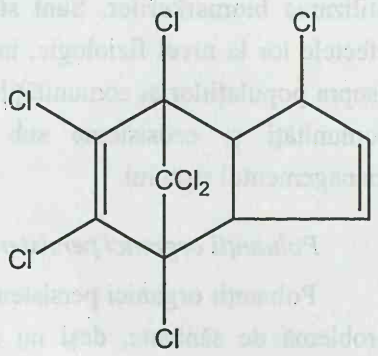
Peştele şi laptele sunt cunoscute pentru conţinutul lor în POP, dar surprinzător, în unele dintre cele mai obişnuite alimente (de exemplu, morcovii şi sucul de fructe) s-au găsit niveluri ridicate de POP. Datele legate de prezenţa dibenzo-*p*-dioxinei sunt încă incomplete, dar lipsesc total în cazul bifenililor policloruraţi (PCB) şi a dibenzofuranilor policloruraţi.

Consumul obişnuit de alimentele cu niveluri de pesticide în limite tolerate de POP ar putea determina însă depăşirea, la un consum zilnic normal, nivelurilor minime de risc pentru dieldrin (cu 50% -60%) şi chiar mai mult pentru DDT.

De fapt, un singur peşte care conţine limita de 5 ppm DDT ar conduce la o acumulare într-un adult care să depăşească nivelurile minime de risc (CMR) de 50 de ori, iar la un copil de 180 ori. Nu orice aliment conţine niveluri detectabile POP, însă CMR sunt estimate la expunerea totală de-a lungul timpului. Diferite surse alimentare şi dieta devin şi mai importante în cazul în care există surse ce conţin mai multe substanţe toxice împreună. Efectul poate fi aditiv şi foarte mare.

Cancerigenitatea pesticidelor. Clordanul şi heptaclorul, administrate peroral la şoarece induc tumori hepatice.

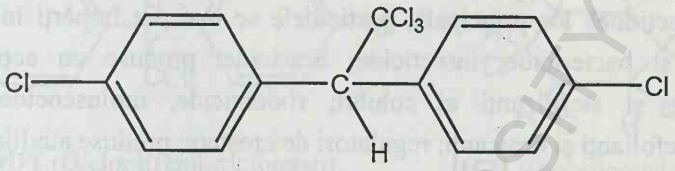




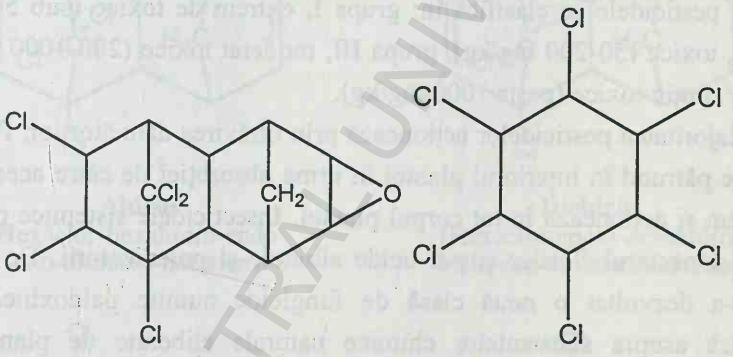
BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

La copii, s-au semnalat cazuri de neuroblastom la cei expuşi pre- sau postnatal la clordan. De asemenea, s-au semnalat cazuri de leucemii acute la persoanele expuse la această substanţă.

DDT-ul, un insecticid scos din uz, induce tumori hepatice la şoareci în administrare perorală. Datele existente la om nu sunt concludente.



Dieldrinul, un alt insecticid, administrat în dietă la şoareci şi la şobolani a condus la apariţia tumorilor hepatice. Datele epidemiologice existente sunt insuficiente pentru a demonstra riscul cancerigen al expunerii omului la dieldrin.



Hexaclorciclohexanul provoacă tumori hepatice la şoareci. La om nu s-au putut efectua studii epidemiologice. Totuşi, au fost semnalate unele cazuri de ciroză şi hepatită cronică, anemie aplastică, leucemie după expunere cronică la hexaclorciclohexan.

Pesticidele

Pesticidele sunt substanţe sau amestecuri de substanţe folosite pentru prevenirea, distrugerea, alungarea sau atenuarea acţiunii unui parazit sau a unui agent cauzator de boală. Pesticidele sunt produsede protecţie a plantelor (protecţia culturilor), care, în general, protejează plantele de influenţele dăunătoare, cum ar fi buruienile, bolile sau insectele. Această utilizare a pesticidelor este atât de comună, încât termenul pesticid este folosit adesea ca

BCU CLUJ / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

sinonim al produselor de protecţie a plantelor, deşi este un termen mai general, deoarece unele pesticide sunt utilizate şi pentru scopuri neagricole.

Totuşi, conform Convenţiei de la Stockholm privind poluanţii organici persistenţi, 9 din 12 cele mai periculoase substanţe organice persistente sunt pesticide. Pesticidele se clasifică în patru categorii de substanţe chimice principale: erbicide, fungicide, insecticide şi bactericide (Gilden *et al.*, 2010). În raport cu acţiunea lor principală, pesticidele se mai pot împărţi în zece clase: fungicide şi bactericide; insecticide; acaricide; produse cu acţiune mixtă; nematocide şi sterilizanţi ai solului; rodenticide, moluscocide, repelenţi; erbicide; defolianţi şi desicanţi; regulatori de creştere; produse auxiliare.

Aceste substanţe pot fi grupate în organo clorurate, organofosforice şi carbamaţi.

În raport cu gradul de toxicitate, exprimat prin DL_{50} mg/kg, oral, la şobolan, pesticidele se clasifică în: grupa I, extrem de toxice (sub 50 mg/kg), grupa II, toxice (50-200 mg/kg), grupa III, moderat toxice (200-1000 mg/kg) şi grupa IV, puţin toxice (peste 1000 mg/kg).

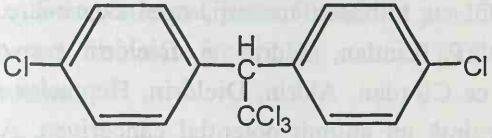
Majoritatea pesticidelor acţionează prin otrăvirea dăunătorilor. Pesticidele sistemice pătrund în interiorul plantei în urma absorbţiei de către aceasta. Urcă prin xilem şi acţionează în tot corpul plantei. Insecticidele sistemice pătrund în polenul şi nectarul florilor şi pot ucide albinele şi polenizatorii. De aceea, în 2009, s-a dezvoltat o nouă clasă de fungicide numite paldoxine. Acestea acţionează asupra substanţelor chimice naturale eliberate de plante pentru apărare de numite fitoalexine. Unele ciuperci realizează detoxificarea cu ajutorul unor enzime. Paldoxinele inhibă enzimele de detoxifiere din fungi. Aceşti compuşi sunt mai siguri şi mai puţin poluanţi.

Insecticidele. Distrugerea insectelor se poate realiza cu substanţe minerale, care sunt compuşi ai As, Pb, F, Se, HCN, H_2S, PH_3, AsH_3, CS_2, precum şi compuşi organici din diferite clase.

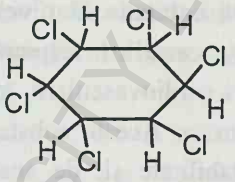
Insecticide organoclorurate sunt derivaţi halogenaţi ai difeniletanului (DDT) şi ciclohexanului (HCH), derivaţi halogenaţi policiclici (Aldrin, Dieldrin, Clordan, Heptaclor) şi terpenici (Toxafen, Camfen policlorurat). Acestea ar putea fi separate în diclorodifeniletani, ciclodiene şi alţi compuşi asemănători. Acesti compuşi acţionează prin perturbarea aşa-numitei pompe de sodiu/potasiu la nivelul fibrei nervoase, determinând nervul să transmită continuu. Toxicitatea

lor diferă mult, însă au fost eliminate din cauza persistenței și potențialului lor de bioacumulare (Kamrin, 1997).

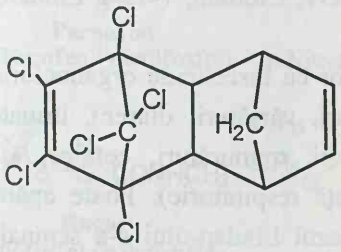
Proprietăți. Insecticidele organoclorurate sunt pulberi cristaline albe, inodore sau cu miros specific, insolubile în apă, solubile în solvenți organici și lipide. Sunt utilizate sub formă de pulberi și soluții.



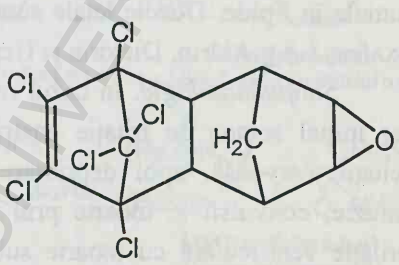
DDT (Diclordifenil-tricloretan)



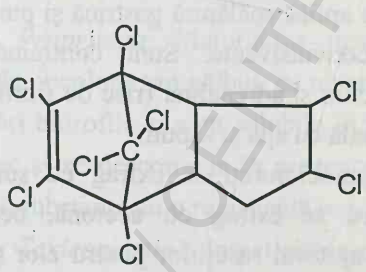
HCH (Hexaclorciclohexan)



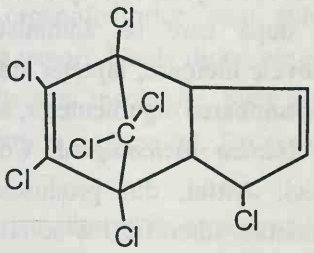
Aldrin
(Hexaclor-hexahidro-endo-exo-dimetan-naftalen)



Dieldrin
(Hexaclor-epoxi-octohidro-endo-exo-dimetan-naftalen)



Clordan
(Octoclor-tetrahidro-endo-metan-indan)



Heptaclor
(Heptaclor-tetrahidro-endo-metan-indan)

Figura 1. Structura unor insecticide organoclorurate

Toxicocinetică. Insecticidele organoclorurate pătrund în organism pe cale respiratorie, transcutanată, digestivă. Fiind liposolubile, se localizează în

BCU MCI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

ţesutul adipos, ficat, măduva osoasă, creier. Se depozitează în ţesutul adipos al omului, de unde se mobilizează la pierdere ponderală bruscă, cu apariţia intoxicaţiilor. După biotransformare, acestea se elimină urinar lent. Sunt toxici cumulativi.

Toxicodinamie. Insecticidele organoclorurate sunt neurotoxice. Iniţial provoacă excitaţie la nivelul SNC, cu tulburări motorii, apoi deprimare, cu afectarea centrilor respiratori. DDT, Lindan, Aldrin şi Dieldrin provoacă tulburări cardiovasculare, în timp ce Clordan, Aldrin, Dieldrin, Heptaclor sunt hepatotoxici. Aceste substanţe prezintă un anumit potenţial cancerigen. Au o mare stabilitate şi, de aceea, lasă reziduuri în produsele alimentare sau se acumulează în grăsimea şi în carnea animalelor de unde trec la om, pentru a se acumula în lipide. Dozele letale sunt: 20 g DDT, Clordan, 7-15 g Lindan, 7 g Toxafen, 3-5 g Aldrin, Dieldrin şi Heptaclor.

Simptomatologie. În cazul intoxicaţiilor cu insecticide organoclorurate, apar iniţial semne de iritaţie gastrică (greţuri, vărsături, diaree), urmate de excitaţie nervoasă, apoi deprimare (parestezii, tremurături, cefalee, ataxie, confuzie, convulsii şi moarte prin insuficienţă respiratorie). Poate apărea şi fibrilaţie ventriculară cu moarte subită. În cazul Lindan-ului s-a semnalat şi scăderea acuităţii vizuale până la orbire. La derivaţii policiclici fazele de excitaţie alternează cu cele de deprimare. Simptomatologia poate fi mascată de solvenţii organici în care aceşti compuşi sunt dizolvaţi.

Primul ajutor. În lipsa convulsiilor se aplică spălătură gastrică şi purgativ salin, după care se administrează anticonvulsivante. Sunt contraindicate purgativele uleioase, laptele, grăsimile, precum şi adrenalina (risc de fibrilaţie). La contaminarea tegumentelor, acestea se spală cu apă şi săpun.

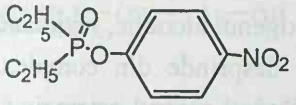
Analiza toxicologică. Compuşii organoclouraţi se extrag cu solvenţi organici. Astfel, din produsele alimentare se extrag cu acetonă, benzen, diclormetan. Identificarea se realizează cu ajutorul reacţiilor pentru clor (după saponificare) sau prin reacţiile specifice fiecărui compus organoclorurat în parte. Dozarea se bazează pe nitrare, declorinare şi dozarea C_6H_6, în cazul HCH, precum şi pe gaz-cromatografie.

Insecticide organofosforice

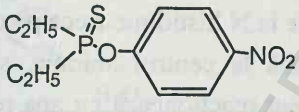
Organofosforicele şi carbamaţii au înlocuit semnificativ organo-cloruratele. Aceste substante sunt active fiziologic prin inhibarea enzimei

acetilcolinesterază, ceea ce permite acetilcolinei să transmită impulsurile nervoase nelimitat. Sunt provocate astfel o varietate de simptome, cum ar fi slăbiciunea sau paralizia. Insecticidele organofosforice sunt deosebit de toxice pentru vertebrate şi de aceea au fost înlocuite cu carbamaţi care sunt mai puţin toxici, care cuprind şi tiocarbamaţii şi ditiocarbamaţii, subclase ale carbamaţilor.

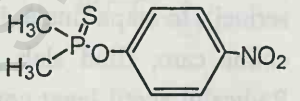
S-au sintetizat peste 50.000 de produse organofosforice. Majoritatea lor provoacă frecvente intoxicaţii acute. Tipul reprezentativ al acestei clase este Parationul.



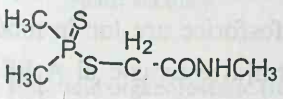
Paraoxon
(p-Nitrofenil-dietilfosfat)



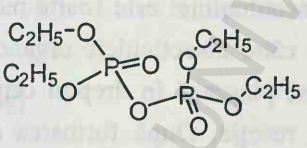
Paration
(p-Nitrofenil-dietiltiofosfat)



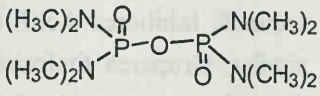
Metilparation
(p-Nitrofenil-dimetiltiofosfat)



Rogor
(Ditiofosfat de dimetil N-metilcarbamoilmetil)



TEPP
(Tetraetil pirofosfat)



OMPA (Schradan)
(Octametiltetraamida acidului pirofosforic)

Figura 2. Exemple de insecticide organofosforice.

Proprietăţi. Majoritatea insecticidelor organofosforice sunt substanţe lichide, incolore sau gălbui, cu tensiune mare de vapori. Unele dintre ele posedă grupări hidrofile şi sunt solubile în apă, celelalte sunt insolubile. Sunt instabile chimic şi se descompun în prezenţa apei, luminii şi oxigenului. De asemenea, aceste substanţe au o remanenţă redusă.

Toxicocinetică. Insecticidele organofosforice pătrund în organism pe cale respiratorie, transcutanată şi digestivă. Se absorb rapid şi se distribuie în ficat, rinichi, plămâni şi mai puţin în muşchi, miocard, creier, fără a se acumula. Biotransformarea se realizează prin desulfurare oxidativă (*Parationul* trece în paraoxon, iar acesta se hidrolizează în dietilfosfat şi p-nitrofenol), hidroliză cu detoxifiere (*Dipterex*), N-demetilare (*Rogor*) sau N-dezalchilare (*OMPA*). *Sistox* suferă desulfurare oxidativă, ambii izomeri formează sulfoxizi şi sulfone, mai toxici decât produşii iniţiali.

Toxicodinamie. Insecticidele organofosforice îşi manifestă acţiunea toxică prin inhibarea acetilcolinesterazei (AchE), după pătrunderea în fanta sinaptică. În prima etapă are loc orientarea spaţială: acetilcolina se plasează cu polul său pozitiv (azot cuaternar) în dreptul centrului anionic al AchE şi cu polul negativ (gruparea electrofilă C = O) în dreptului centrului esterazic al AchE (constituit din azotul histidinei şi hidroxilul serinei). Într-o a doua etapă, se realizează apropierea şi adsorbţia de suprafaţă, deoarece încărcătura electrică este de semn contrar; la centrul anionic se manifestă forţe van der Waals cu azotul cuaternar, iar la centrul esterazic, o legătură covalentă între C (din C = O) şi O (din OH al serinei). În etapa finală, H de la N histidinic trece pe oxigenul alcoolic, rezultând colina care, fiind slab legată la centrul anionic, se desprinde din complex. Radicalul acetil legat covalent reacţionează cu apa refăcând centrul esterazic şi formare de acid acetic.

Viteza de hidroliză a acetilcolinei este foarte mare: 2 x 10^{15} molecule pe secundă. Inhibarea AchE de către insecticidele organofosforice are loc în mod similar. Gruparea fosforică se plasează în dreptul centrului esterazic al AchE. Centrul anionic nu intră în reacţie. După formarea complexului AchE–IOP, atomul de hidrogen de la atomul de azot, N histidinic, trece pe un radical al insecticidului care se elimină, iar radicalul fosforic legat covalent blochează AchE, împiedicând accesul substratului natural, acetilcolina.

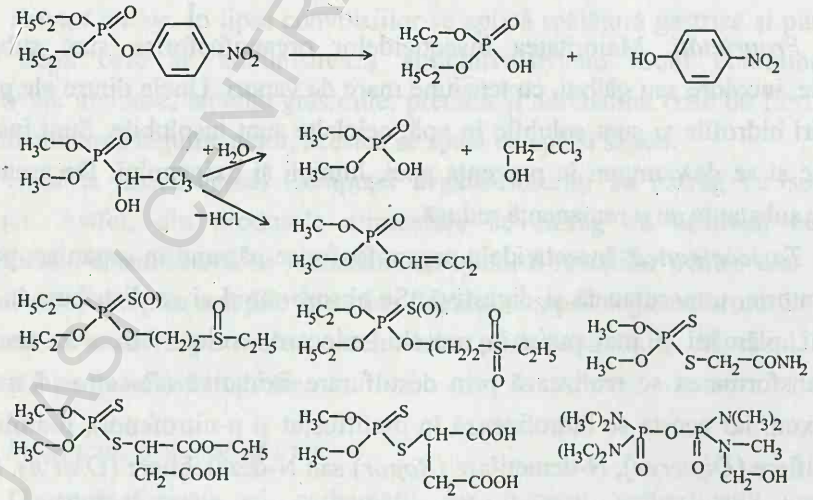


Figura 3. Biotransformarea unor insecticide organofosforice

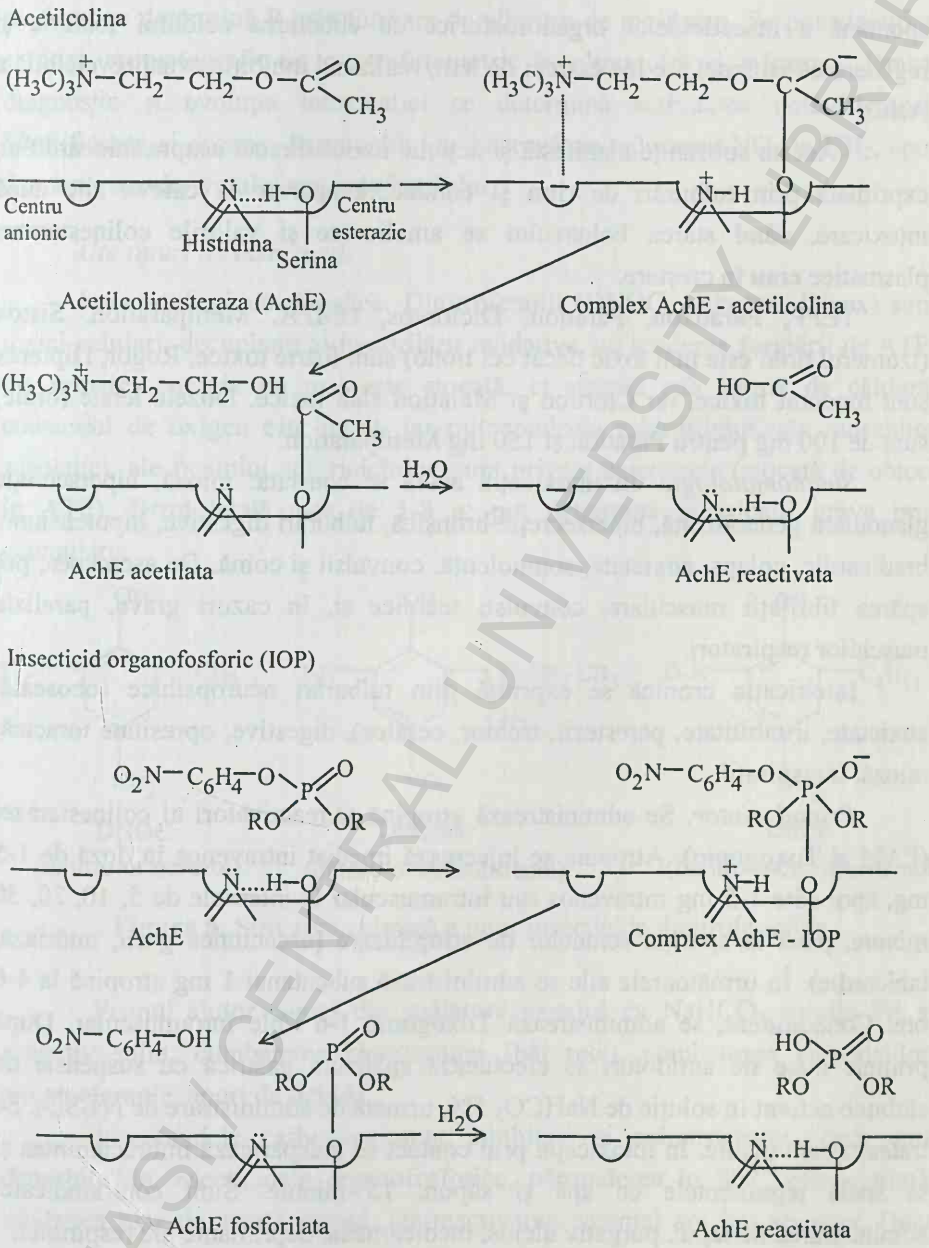


Figura 4. Inhibarea acetilcoliesterazei de către insecticidele organofosforice

Aceasta se acumulează la nivelul sinapselor, cu stimularea, apoi inhibarea transmisiei sinaptice. Spre deosebire de hidroliza rapidă a acetilcolinei, hidroliza

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

spontană a insecticidelor organofosforice cu eliberarea acidului fosforic şi regenerarea enzimei are loc extrem de lent, realizând inhibiţia cvasiireversibilă a AchE.

Aceste substanţe manifestă şi acţiune toxică directă asupra miocardului, exprimată prin tulburări de ritm şi conducere apărute la câteva zile după intoxicare, când starea bolnavului se amelioreze şi valorile colinesterazei plasmatice erau în creştere.

TEPP, Paraoxon, Paration, Diclorvos, OMPA, Metilparation, Sistox (izomerul tiolo este mai toxic decât cel tiono) sunt foarte toxice, Rogor, Dipterex sunt moderat toxice, iar Clortion şi Malation slab toxice. Dozele letale (orale) sunt de 100 mg pentru Paration şi 150 mg Metilparation.

Simptomatologie. În intoxicaţia acută se constată: mioză, hipersecreţie glandulară generalizată, hipersecreţie bronşică, tulburări digestive, hipotensiune, bradicardie, colaps, anxietate, somnolenţă, convulsii şi comă. De asemenea, pot apărea fibrilaţii musculare, convulsii tetanice şi, în cazuri grave, paralizia muşchilor respiratori.

Intoxicaţia cronică se exprimă prin tulburări neuropsihice (oboseală, anxietate, iritabilitate, parestezii, tremor, cefalee), digestive, opresiune toracică, mioză, transpiraţii.

Primul ajutor. Se administrează atropină şi reactivatori ai colinesterazei (PAM şi Toxogonin). Atropina se injectează imediat intravenos în doză de 1-5 mg, apoi câte 1-5 mg intravenos sau intramuscular la intervale de 5, 10, 20, 30 minute, până la apariţia semnelor de atropinizare (uscăciunea gurii, midriază, tahicardie). În următoarele zile se administrază subcutanat 1 mg atropină la 4-6 ore. Concomitent, se administrează Toxogonin 1-6 fiole intramuscular. După primele doze de antidoturi se efectuează spălătura gastrică cu suspensie de cărbune activat în soluţie de $NaHCO_3$ 5%, urmată de administrare de Na_2SO_4. Se tratează convulsiile. În intoxicaţia prin contact se îndepărtează îmbrăcămintea şi se spală tegumentele cu apă şi săpun, 15 minute. Sunt contraindicate: administrarea de lapte, purgativ uleios, medicamente deprimante ale respiraţiei.

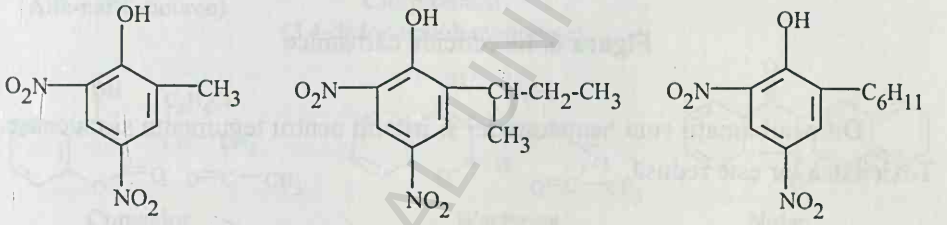
Analiza toxicologică. Insecticidele organofosforice se separă din mediile biologice prin metodele Stas-Otto-Ogier sau Florence (pentru sânge). Cele volatile se izolează prin antrenare cu vapori de apă. Se pot extrage şi cu solvenţi organici din mediu acid. Pentru identificare, se face hidroliză în mediu acid şi

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

oxidare; se determină P prin formare de albastru de molibden. Se pot identifica şi doza cromatografic şi spectrofotometric în ultraviolet şi infraroşu. Pentru diagnostic şi evoluţia intoxicaţiei se determină activitatea colinesterazei. Identificarea şi dozarea Parationului se bazează pe reducerea NO_2 la NH_2, apoi formarea azoderivatului sau indofenolului.

Alte tipuri de insecticide

Insecticide dinitrofenolice. Dinitrofenolii (DNOC, Dibutox, Dinex) sunt toxici celulari, decuplanţi ai fosforilării oxidative, cu scăderea formării de ATP. Ca urmare, energia nu mai este stocată, ci risipită sub formă de căldură, consumul de oxigen este mărit, iar mitocondriile miocardului, ale muşchilor scheletici, ale ficatului, ale rinichilor, sunt private de energie (stocată de obicei în ATP). Doza letală este de 1-3 g; pot determina intoxicaţii grave prin acumulare.



DNOC (dinitro-ortocrezol) | Dibutox (dinitro-o-sec.butilfenol) | Dineb (dinitro-o-ciclohexilfenol)

Figura 5. Structura chimică a unor insecticide dinitrofenolice

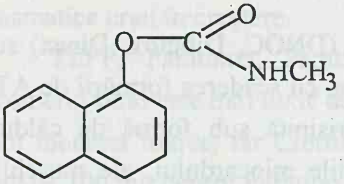
Primul ajutor constă din spălătură gastrică cu $NaHCO_3$ soluţie 5% şi purgativ salin, combaterea hipertermiei (băi reci), combaterea convulsiilor, oxigenoterapie, aport de lichide.

Insecticidele carbamice sunt inhibitori ai colinesterazei, însă, spre deosebire de insecticidele organofosforice, pătrunderea în SNC este minimă, inhibarea este de scurtă durată, iar reactivarea enzimei are loc spontan. Doza letală pentru cel mai toxic compus carbamic (Izolan) este de 6 g.

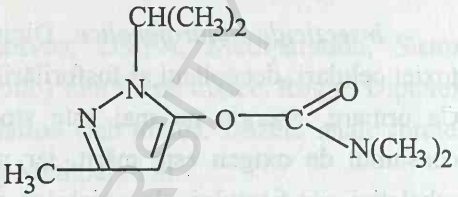
BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Fungicide

Fungicidele sunt pesticidele utilizate la combaterea ciupercilor parazite ale plantelor utile. Acestea pot avea natură anorganică (sulf, sulfuri, polisulfuri, compuşi ai cuprului, amestecuri de oxizi metalici sau organică (difenilul, compuşii organomercurici, derivaţii ditiocarbamici).



Carbaril
(metilcarbamat de alfa-naftil)



Izolan
(dimetilcarbamat de izopropil-metilpirazol)

Figura 6. Insecticide carbamice

Ditiocarbamaţii sunt hematotoxici şi iritanţi pentru tegumente şi mucoase. Toxicitatea lor este redusă.

Rodenticide

Pentru distrugerea rozătoarelor şi a altor vertebrate dăunătoare se utilizează substanţe vegetale (*Scilla maritima*), minerale (fosforul alb, fosfuri de zinc sau aluminiu, derivaţi de arsen, săruri de bariu sau taliu) şi organice (stricnină, veratrină, produşi de sinteză).

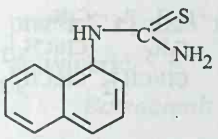
Derivaţii de tiouree sunt slab toxici la om. La ingerarea unei mari cantităţi de substanţă poate surveni moartea prin insuficienţă respiratorie sau cardiovasculară. În intoxicaţia acută se recomandă administrarea de soluţie de tiosulfat de sodiu, $Na_2S_2O_3$ 10%, 10 ml intravenos.

Anticoagulantele de sinteză (Warfarină, Cumaclor, Pival, Nidan) se comportă ca antimetaboliţi ai vitaminei K; urmare a blocării sintezei complexului protrombinic, scade protrombina cu apariţia hemoragiilor. Antidotul este vitamina K_1 (fitomenadiona), 50-100 mg intravenos, lent, în primele 24 ore.

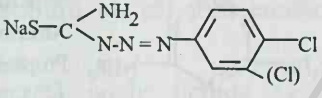
BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Fluoroacetatul de sodiu, $FCH_2—COONa$, determină, prin sinteză letală, formarea de acid fluorhidric, cu manifestări toxice determinate de inhibarea ciclului Krebs şi spolierea organismului de Ca^{2+}. Antidotul este glicerolmonoacetatul (Monoacetin), donor de acetat.

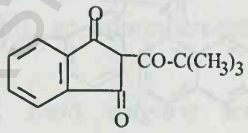
Analiza toxicologică. ANTU se extrage cu $CHCl_3$, se hidrolizează alcalin şi se identifică naftilamina rezultată prin reacţia Griesz. Warfarina se extrage cu $CHCl_3$ în mediu acid, se nitrează, se reduce NO_2 la NH_2, se diazotează şi se cuplează. Fluoroacetatul se identifică, după hidroliză alcalină, prin F^- rezultat.



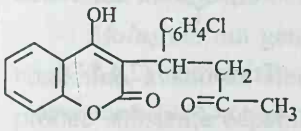
ANTU
(Alfa-naftil-tiouree)



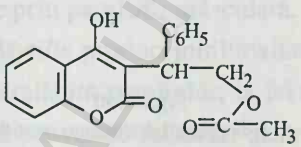
Promurit
(p-clor-fenildiazotiouree)
Clorpromurit
(3,4-diclor-fenildiazotiouree)



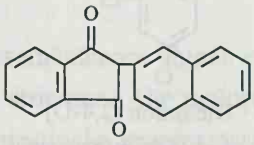
Pival
(2-pivaloil-1,3-indandiona)



Cumaclor
(3-(alfa-clorfenil-beta-acetil-etil)--4-hidroxicumarina)



Warfarina
(3-(alfa-fenil-beta-acetiletil)--4-hidroxicumarina)



Nidan
(2-naftil-1,3-indandiona)

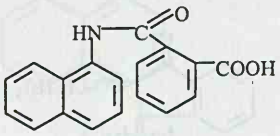
Figura 7. Structura chimică a unor rodenticide

Erbicide

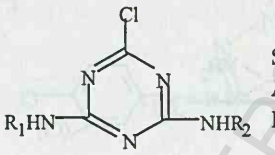
Prin erbicid se înţelege substanţa minerală ($NaClO_3$, $CaCN_2$, $CuSO_4$, $NH_2—SO_2—ONH_4$, $Na_2B_4O_7$, $NaBO_2$) sau organică utilizată la distrugerea buruienilor, fără a perturba procesele fiziologice ale plantelor cultivate. Clasele de erbicide includ de pildă compuşi erbicidele fenoxidice şi derivatele de la acidul benzoic (de exemplu, 2,4-D), triazinele (atrazin), derivaţii de uree (diuron), şi cloroacetanilidele (Alaclor). Compuşii fenoxi au proprietatea de a distruge selectiv buruienile foioase, mai degrabă decât ierburile. Erbicidele fenoxi şi acidul benzoic au structuri asemănătoare cu hormonii de creştere ai

plantei şi perturbă diviziunea celulară normală. Triazinele interferă cu fotosinteza.

În ceea ce priveşte toxicitatea faţă de om şi de mamifere, ariloxiacizii (Diclordon, Agroxon, Triclordon) interferă în metabolismul glucidelor, cu manifestări la nivelul sistemului nervos, miocardului, ficatului şi rinichilor. Sunt toxici cumulativi. Doza letală este de 6 g. În intoxicaţia acută se recomandă spălătura gastrică şi tratamentul simptomatic.

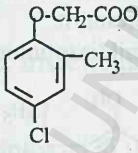


Alanap
(N-naftilamida acidului ftalic)

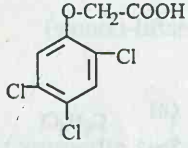


Simazin	$R_1 = C_2H_5$	$R_2 = C_2H_5$
Atrazin	C_2H_5	$CH(CH_3)_2$
Propazin	$CH(CH_3)_2$	$CH(CH_3)_2$

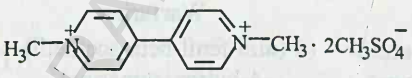
Diclordon (2,4-D)
(acid 2,4 diclorfenoxiacetic)



Agroxon
(acid 2 metil, 4 clorfenoxiacetic)



Triclordon (2,4,5 D)
(acid 2,4,5 triclorfenoxiacetic)



Paraquat

Figura 8. Exemple de erbicide

Derivaţii ureici provoacă intoxicaţii acute (tulburări digestive, neurologice şi hepatorenale) şi cronice (cefalee, astenie, dermatoze, agranulocitoză). Cel mai toxic reprezentant al clasei este tioureea, care prezintă şi proprietăţi abortive.

Derivaţii ftalici (Alanap; doza letală, 1 g) determină leziuni corozive pe tractul gastrointestinal, cu simptomatologie şi tratament ca la acizii corozivi.

Diazinele şi triazinele (Simazin, Atrazin, Propazin) sunt lipsite de toxicitate şi nu sunt iritante.

Paraquatul (metilsulfat de 1,1',4,4'-dipiridiniu) acţionează toxic prin legare de acizii nucleici şi mucozaharidele intercelulare.

BCU "CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY"

Zootoxine

Viperele sunt singurele reptile periculoase din România. Veninul lor conţine neurotoxină (cu acţiune asupra SNC), hemoragina (care alterează epiteliul vascular) şi hemolizina (cu acţiune hemotilică). Muşcătura de viperă determină local durere, eritem, edem, iar după absorbţie cefalee, anxietate, ameţeli, dureri toracice şi musculare, sindrom dizenteriform, hemoragii cutanate şi poliviscerale (datorită coagulării intravasculare). Primul ajutor constă din sugerea locului muşcat, după incizarea pielii (toxina nu se absoarbe prin mucoasa bucală sau digestivă, dacă acestea sunt intacte). În primele 30 minute se practică excizia muşcăturii şi, cât mai curând posibil, se administrează ser antiviperic.

Batracienii secretă unele lichide veninoase. *Bufo vulgaris* secretă substanţe iritante de tipul bufotalinei şi bufoteninei (5-hidroxi-N,N'-dimetiltriptaminei), un compus halucinogen.

Unele specii de *peşti* conţin ciguatoxină, o lipidă hidroxilată, care determină intoxicaţii mortale prin paralizie musculară.

Moluştele din genul *Mytilis* produc mitilitoxina, asemănătoare chimic cu creatinina, având un efect paralizant respirator, la fel cu stricnina. Alte moluşte produc substanţe capabile să provoace tulburări gastrointestinale, eritematoase, hemolitice, neurologice, uneori cu complicaţii hepatorenale grave.

Unele insecte, cum ar fi viespea şi albina posedă venin cu acţiune histaminică, hemolitică şi neurotoxică. Toxina principală este melitina, care are acţiune similară saponinei. Înţepătura, de obicei benignă, poate deveni gravă sau mortală, în funcţie de localizare (la nivelul limbii şi gurii se produce edem laringian sau faringian), de numărul înţepăturilor (> 10 determină intoxicaţie, > 100 sunt mortale), ca şi de sensibilitatea individuală. Înţepătura de scorpion (*arahnide*) produce cefalee, hiperexcitabilitate musculară, cianoză şi este adesea mortală la copii.

Fitotoxine

Ricina este o toxină din *Ricinus communis* care acţionează hemolitic.

Ingerarea provoacă tulburări digestive, nervoase, cardiovasculare; dozele mari provoacă moartea prin stop cardiac sau complicaţii renale. Doza letală: 0,003- 0,10 g sau 20 seminţe de ricin.

Figura 9. Ricinul

Uleiul de ricin nu este dăunator organismului, însă o singură seminţă a plantei din care este extras acest ulei poate ucide un om în doar câteva minute. Primele simptome sunt greaţa, ameţeală, tahicardie, atacuri cerebrale şi tensiune scazută – simptomele pot ţine câteva săptămâni.

*Crotina*se se găseşte în uleiul de *Croton tiglium* şi acţionează asemănător ricinei. După o perioadă de latenţă, aceasta determină tulburări digestive. La doze mari (peste 20 picături) survine moartea prin insuficienţă circulatorie sau respiratorie.

Fasina este o toxină din boabele de fasole (*Phaseolus vulgaris*) care provoacă moartea prin enterită hemoragică.

Alte plante toxice

Leandrul este una dintre cele mai toxice plante, cultivate în gospodării, deoarece provoacă probleme intestinale şi dureri puternice. De asemenea, leandrul poate provoca probleme de inimă, proastă circulaţie, frisoane, atacuri cerebrale, comă şi chiar moarte.

Crăciuniţa este o plantă ornamentală, denumită în acest fel deoarece înfloreşte în preajma Crăciunului. Planta are de obicei frunze roşii şi verzi şi face flori de culoare roz. Persoanele care au înghiţit frunze din aceasta plantă s-au plâns ca au suferit de diaree şi de erupţii pe piele. În unele cazuri, persoanele care au atins frunzele şi pe urmă au dus mâinile la ochi au suferit de tulburări de vedere temporare. În cele mai multe din cazuri, pacienţii care s-au prezentat la doctori din cauza intoxicaţiei cu această plantă sunt copii.

Iedera este o plantă cățărătoare, ce creşte foarte repede şi se extinde foarte mult. Cât timp vremea este călduroasă, planta este mereu verde. Frunzele de iederă provoacă însă halucinaţii şi febră. În multe cazuri au fost înregistrate simptome ca delir, iritaţii ale pielii sau băşici în zona gurii. Copiii sunt afectaţi uneori de această specie otrăvitoare.

Aloe vera a fost folosită încă de pe vremea incaşilor pentru tratarea arsurilor. Aceştia posedau cunoştinţele necesare care le permiteau manipularea doar a anumitor părţi din plantă. În principiu, nici tulpina şi nici seva care este interiorul plantei de *Aloe vera* nu sunt toxice, ci doar membrana care se află între tulpină şi sevă. Cei care au înghiţit planta în forma brută au raportat ameţeli severe, diaree, erupţii pe piele şi colorarea urinei în roşu (nu de la sânge).

Florile de azalee pornesc de la alb spre roz puternic şi emană un miros încântător. Azaleea este însă nocivă în cazul în care frunzele sunt înghiţite, putând conduce la moarte. Simptomele intoxicaţiei cu frunze de azalee pornesc de la vomă, salivaţie excesivă, umezirea exagerată a ochilor şi a nasului, dureri abdominale, probleme respiratorii, paralizia mâinilor şi a picioarelor şi într-un final comă care duce la deces.

Dieffenbachia este o specie din zona pădurilor tropicale, fiind o plantă decorativă care are frunze mari, ovale, alungite, de culoare verde cu pete albe.Printre cele mai întâlnite simptome în cazul intoxicaţiei găsim incapacitatea de articulare a cuvintelor, greaţă, vomă şi ameţeală.

Merişoarele verzi (*Hippomane Mancinella*) sunt originare din Florida şi sunt, de asemenea, printre cele mai otrăvitoare plante din lume, astfel încât în unele locuri poartă numele de „merişoarele morţii". Fructul nu este singurul element toxic, copacul fiind în întregime nociv atât pentru oameni, cât şi pentru animale. Consumarea fructelor, care seamană cu merele, cauzează moartea, iar copacul nu este nici un bun adăpost pentru ploaie, deoarece apa îl face să secrete

BOTANICAL GARDEN UNIVERSITY LIBRARY

o substanţă albicioasă, care, în contact cu pielea, o arde. Nici lemnul nu este bun de ars, deoarece fumul produs este foarte toxic şi poate provoca orbire şi probleme respiratorii.

Mătrăguna (*Belladonna*, cireşele morţii sau mura diavolului) are atât fructele, cât şi frunzele extrem de toxice; se cunosc cazuri în care copii au murit după ce au mâncat doar două fructe. Consumarea fructelor conduce la delir, halucinaţii, pupile dilatate, sensibilitate la lumină, tahicardie, dureri de cap, erupţii ale pielii şi convulsii. Dacă nu primesc antidotul la timp, cei care mănâncă aceste fructe, mor din cauza problemelor de respiraţie şi a ritmului alert al inimii.

Cucuta este o plantă ce creşte în zone cu climă temperată şi se găseşte atât în Romania, cât şi în America de Nord, de regulă pe câmp sau pe marginea apei. Otrava se găseşte în rădăcinile plantei. Atingerea sau ingerarea lichidului care curge din rădăcina plantei cauzează pe loc atac cerebral şi deces.

Tisa (*Taxus baccata*) este unul dintre cei mai periculoşi copaci din lume, care creşte în pădurile din Europa. Cu excepţia fructelor, întregul copac este toxic. Tisa era folosită pe vremuri, de către medicii naturişti, pentru inducerea avortului, însă din păcate rezultatul era de obicei mortal atât pentru mamă, cât şi pentru făt. Consumul plantei cauzează infarct şi moarte. Efectul se manifestă repede şi nu există antidot.

Rubarba (*Rheum officinalis*) are rădăcinile comestibile, însă frunzele pot fi fatale. Consumul în cantităţi mari de frunze de Rheum poate cauza dificultăţi în respiraţie şi arsuri ale cavităţii bucale şi gâtului. Simptomele apar în aproximativ o oră de la consum şi includ: convulsii, hemoragii interne, comă şi moarte.

Laurul Daphne este o plantă specifică pentru Europa şi Africa de Nord. Ingerarea câtorva seminţe ale acestei plante cauzează colică intestinală, comă şi moarte.

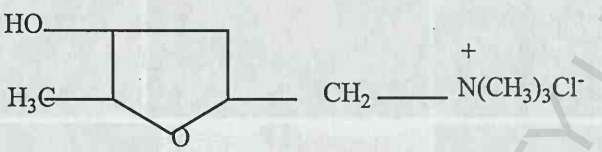
Ciumafaia, numită şi trompeta diavolului, iarba dracului sau clopoţeii iadului, este o plantă foarte comună, chiar şi pe la noi însă consumul ei este mortal.

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

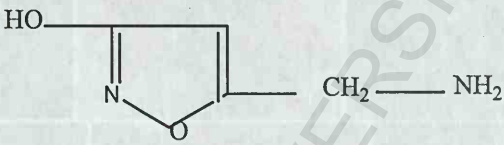
Figura 10. Exemple de câteva plante toxice: a) leandru; b) aloe vera; c) iedera; d) crăciuniţa; e) merişoare verzi; f) Dieffenbachia; g) azaleea; h) mătrăguna; i) cucuta; j) tisa; k) rubarba; l) laurul Daphne; m) ciumăfaia.

Micotoxine

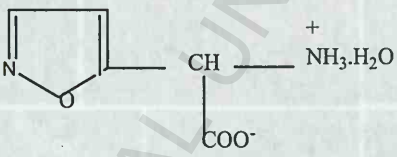
Din cele peste 3000 specii de ciuperci otrăvitoare existente, în ţara noastră se află 50 specii, majoritatea aparţinând genului *Amanita.*



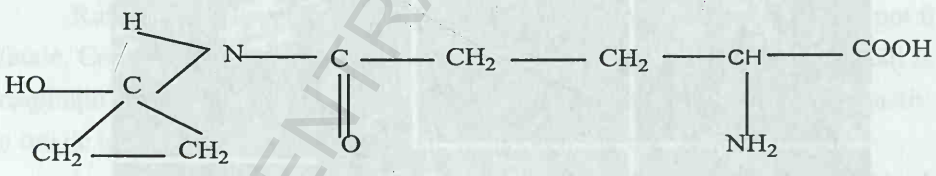
Muscarina



Muscimolul



Acidul ibotenic



N^5-(hidroxiciclopropil)-glutamina

Figura 11. Câteva toxine din ciuperci

Sindromul faloidian, cu incubaţie lungă, provocat în 80% din cazuri, *Amanita phalloides* (ciuperca albă, buretele viperii), iar în rest de *A. virosa* şi *A. verna* reprezintă 90% dintre intoxicaţiile mortale cu ciuperci. *A. phalloides* conţine următoarele grupe de toxine:

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

- *Faloidinele* (faloidina, faloina, falacidina), polipeptide biciclice, dintre care faloidinase găseşte în concentraţia cea mai mare (10 mg/100 g ciuperci proaspete). Faloidinele determină tulburări gastrointestinale, iar leziunile hepatocelulare constau în alterarea reticulului endoplasmatic, degradarea membranei lizozomilor cu punerea în libertate a enzimelor hidrolitice;

- *Amanitinele (α, β, γ)* sunt polipeptide biciclice, dintre care cea mai toxică şi în cantitate mai mare este α–amanitina: doza letală la om este 0,1 mg/kg corp şi are o concentraţie medie de 8 mg/100 g ciuperci proaspete. α–amanitina determină tulburările gastrointestinale secundare intoxicaţiei, leziuni renale şi hepatice, prin blocarea ADN-polimerazei şi deci a sintezei proteinelor şi lipoproteinelor, conducând la steatoză hepatică;

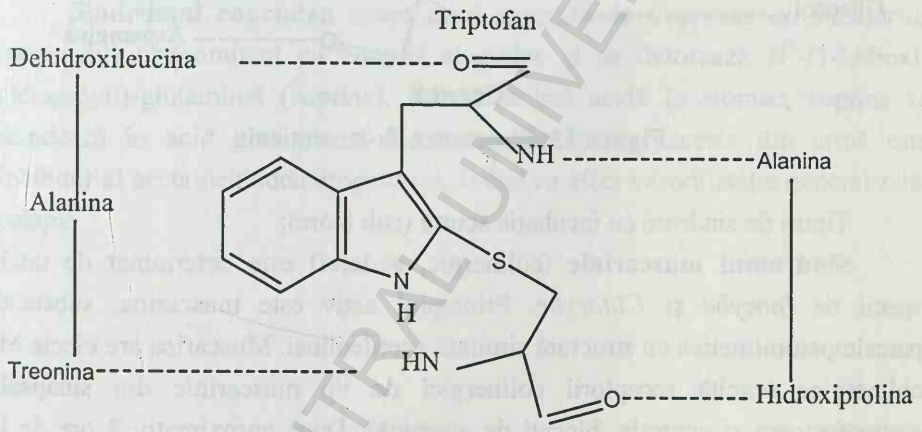


Figura 12. Structura faloidinei

- *Falina*, este o hemolizină glicozidică, foarte toxică pe cale parentală, care se inactivează prin fierbere.

În intoxicaţia faloidiană se observă, după o fază de latenţă (6-40 ore), faza de agresiune (2-5 zile), în care se dezvoltă o gastroenterită severă, urmată de deshidratare masivă. Dacă intoxicatul supravieţuieşte, urmează faza parenchimatoasă (hepatopatie, tubulonefrită, uneori manifestări neurologice). Steatoza centrolobulară toxică evoluează fie spre vindecare completă, fie spre citoliză masivă şi moarte. Primul ajutor constă în internarea de urgenţă pentru corectarea dezechilibrelor biologice grave, nu în evacuarea tubului digestiv,

datorită perioadei lungi de latenţă. Încercările de a neutraliza toxinele prin seroterapie nu au dat rezultate la om.

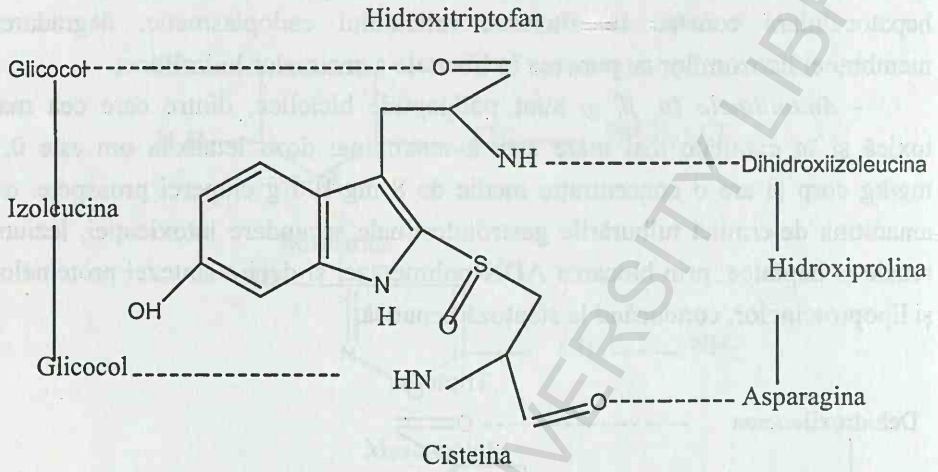


Figura 13. Structura alfa-amanitinei

Tipuri de sindrom cu incubaţie scurtă (sub 8 ore):

Sindromul muscarinic (colinergic, sudoral) este determinat de unele specii de *Inocybe* şi *Clitocybe*. Principiul activ este muscarina, substanţă parasimpatomimetică cu structură similară acetilcolinei. Muscarina are efecte M-colinergice (excită receptorii colinergici de tip muscarinic din sinapsele neuroefectoare şi centrale, blocaţi de atropină). După aproximativ 3 ore de la ingerare apar gastroenterită, hipersecreţie glandulară generalizată, bradicardie, hipotensiune, mioză. Ca antidot se administrează sulfat de atropină în doză de 0,5 mg subcutanat sau intramuscular la fiecare 4 ore, până la dispariţia completă a sindromului colinergic. Se poate recurge şi la spălătură gastrică (dacă s-a ingerat o mare cantitate de ciuperci).

Sindromul micoatropinic este determinat de *Amanita muscaria* (pălăria şarpelui, muscariţa) şi *A. pantherina* (buretele pestriţ, buretele bulbos). Principiile toxice sunt muscimolul şi acidul ibotenic, precum şi mici cantităţi de muscarină. După aproximativ două ore de la ingerare apar dureri abdominale şi hipersudoraţie (datorită muscarinei), apoi agitaţie, furie, halucinaţii, convulsii,

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

midriază (datorită celor două toxine). Ca prim ajutor se aplică spălătura gastrică. Atropina este contraindicată deoarece agravează tulburările neuropsihice.

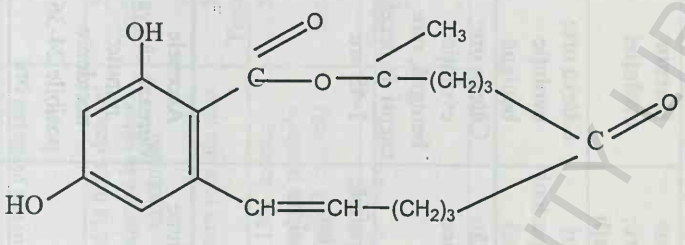


Figura 14. Zearalenona

Sindromul coprinian apare după ingerare de *Coprinus atramentarius* (popenchi) concomitent cu băuturi alcoolice şi se datorează N^5-(1-hidroxiciclopropil)-glutaminei (coprina). Prin hidroliză acidă în stomac, coprina se scindează în acid glutamic şi 1-aminociclopropanol; acesta din urmă este inhibitor al acetaldehiddehidrogenazei, având ca efect vasodilataţie generalizată, colaps.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Tabelul 1. Sindrom cu durată scurtă de incubaţie (după Evreux)

Sindrom	Specii	Timp de incubaţie	Semne digestive	Atingere principală	Simptome secundare; complicaţii	Durata evoluţiei	Tratament
Muscarinic (colinergic sudoral)	*Inocybe* şi *Clitocybe*	1/4-4ore	++++	Transpiraţii, diaree, mioză	Tulburări respiratorii (pericol de colaps)	Câteva ore; evoluţie benignă	Atropină
Micoatropinic (panterian)	*Amanita pantherina* *Amanita muscaria*	1/2-6 ore	+ -	Delir, convulsii, comă	Manifestări colinergice	Câteva ore; evoluţie benignă; rare cazuri de deces	Calmante
Rezinoidian (holeriform precoce)	*Entoloma lividum* *Tricholoma pard.* *Clytocibe olearia*	1-6 ore	++++	Tulburări digestive	Atingere hepatică; dezechilibru hidroelectrolitic	1-48 ore	Simptomatic
Coprinian	*Coprinus atramentarius*	Imediat după consum de alcool	0	Efect antabuz	Hipotensiune	Accesele durează câteva minute; accidente posibile 24-36 ore	Suprimarea alcoolului, vitamina C
Narcotinian (pseudoschizofrenic)	*Panaeolus* *Psilocybe*	1-8 ore	+ -	Tulburări psihosenzoriale	-	Câteva ore	Sedative

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Tabelul 2. Sindroame cu durată lungă de incubaţie (după Evreux)

Sindrom	Specii	Timp de incubaţie	Semne digestive	Atingere principală	Simptome secundare; complicaţii	Durata evoluţiei	Tratament
Faloidian (holerifor tardiv)	Amanita phalloides Amanita verna Amanita virosa	6-40 ore	++++	Hepatică (citoliză)	Renală, cardiacă, pulmonară, neurologică	Până la 60% decese; vindecare în câteva săptămâni	Simptomatic; Tratamentul hepatitei
Parafaloidian	Lepiota helveolla	6-15 ore	++++	Hepatică	Renală	Cazuri mortale rare	Simptomatic; Tratamentul hepatitei
Orelanian	Cortinarius orellanus	2-17 zile	+ -	Renală (nefrită interstiţială toxică)	Hepatică, atingere suprarenală	15% decese; sechele posibile (nefrită cronică)	Simptomatic; Tratamentul insuficientei renale
Helvelian (hemolitic)	Gyromitra esculenta	6-24 zile sau mai mult	++	Hepatică; Hemoliză acută	Neurologică; Respiratorie; tubulonefrită	10-15% decese	Tratamentul hepatitei; hemolizei etc.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Micotoxine produse de micromicete

Fungii din diverse genuri produc toxine capabile să modifice structurile normale biologice, cu efecte nocive la om, plante si bacterii. Cele peste 300 de micotoxine au fost incluse în trei categorii:

Micotoxine cancerigene au structuri diverse şi sunt aflatoxinele, sterigmatocistina, patulina, acidul penicilic, citrinina, PR-toxina, acidul ciclopiazonic, griseofulvina, islanditoxina, luteoschirina. Cele mai nocive sunt aflatoxinele. În experimentele realizate de diverşi cercetători, aflatoxinele au indus hepatoame şi au determinat apariţia de megalocite în celulele parenchimului, care reprezintă prima treaptă a dereglării maligne. Doza la care apar aceste efecte, de 10 μg/zi, este foarte mică în comparaţie cu a altor substanţe cancerigene. Hepatoamele sunt mai frecvente la unele populaţii din Africa, unde există obiceiul de a se consuma alimente mucegăite. Consumul de produse mucegăite este legiferat; s-a stabilit CMA = 5 μg/kg produs alimentar de aflatoxină B_1 sau de toate celelalte aflatoxine însumate.

Aflatoxinele sunt determinate prin cromatografie în strat subţire: ele emit fluorescenţă la 360 nm şi la 254 nm, cu o sensibilitate de ordinul nanogramelor.

Micotoxine producătoare de *aleucie toxică alimentară* sunt trichotecenele, produşi de metabolism ai speciilor de *Fusarium*, *Cephalosporium*, *Trichothecium*, *Trichoderma* etc. cu DL_{50} variabil şi structură sesquiterpenică tetraciclică:

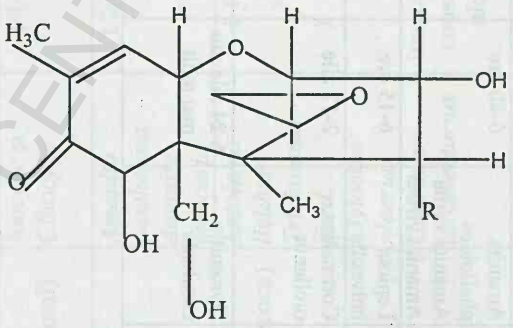


Figura 15. Micotoxine care determină aleucie toxică alimentară

Fusarenonul: R = OAc

Toxina T2: R = $OCOCH_2CH(CH_3)_2$

Neosolaniolul: R = OH

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Unele micotoxine (de exemplu toxina T_2) prezintă efecte neurotoxice şi teratogene.

Alte tipuri de micotoxine: acidul kojic, acidul aspergilis, rubratoxinele, micotoxinele tremorigene, decumbina, zearalenona. Aceasta din urmă prezintă un efect specific estrogen.

Marea majoritate a micotoxinelor sunt termorezistente, încât decontaminarea nu se poate realiza prin fierbere. Se recurge, de aceea, la condiţtionarea mediului de depozitare, la folosirea agenţilor antifungici şi a unor factori naturali de rezistenţă.

Alcaloizii din cornul secarei

Cornul secarei (*Claviceps purpurea*) este o ciupercă ce parazitează unele cereale, cum ar fi secara, triticalele, grâul etc. (Dobrescu, 1989). Scleroţii ciupercii pot contamina produsele de panificaţie şi, datorită conţinutului ridicat de alcaloizi toxici din cornul secarei (ergotinina, ergotamina etc.), consumul îndelungat de cereale contaminate conduce la o intoxicaţie cronică gravă, numită ergotism sau *focul sfântului Anton* (Andrei, 2010; Bandyopadhyay, 1998). Concentraţia maximă admisă este de 0,1% în grâul alimentar şi 0,05% în făină. Pigmenţi antrachinonici sunt responsabili de culoare brun-violet-roşiatică a ergotului. Acestia sunt pigmenţi de culoare portocaliu-roşietică (endocrinina, clavorubina) şi, respectiv, pigmenţi de culoare galben pal (ergocromul şi ergocrisina).

Prima atestare istorică a cornului secarei apare în China (1100 î.Hr). Hipocrate observă că făina de secară produsă în condiţii care favorizează creşterea scleroşilor poate produce avort. În Evul Mediu (sec. XI-XII), sunt menţionate epidemii, în special în Franţa, denumite „focul sfânt" sau „boala celor care ard". O epidemie decimează Parisul în anul 945, iar supravieţuitorii s-au refugiat în biserica Sf. Maria, fiind hrăniţi de către întemeietorul dinastiei Capet (a capeţienilor) ducele Hugo cel Mare. Vindecări se obţineau prin pelerinaje la Altarul Sfântului Anton, într-o regiune a Franţei care nu era contaminată cu ciuperca *Claviceps purpurea*. Pelerinii nu mai consumau un timp cereale infestate şi apăreau vindecări miraculoase („focul Sf. Anton", sec. al XIII-lea). Ergoturile posedă proprietăţi ocitocice după cum a remarcat Adam Lonicer (1528-1586), care a observat că femeile gravide consumau scleroţi

BUAS CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

pentru a avea o naştere uşoară. Primul raport (1676) asupra efectelor ergotului se datorează lui Denis Dodart, medic curant al lui Ludovic al XIV-lea. Identificarea sclerotului ca ciupercă aparţine lui Augustin Pyrame de Candolle (1778-1841). În 1853 Louis René Tulasne identifică ciuperca *Claviceps purpurea*, ca fiind cauza unor otrăviri. În anul 1938, chimistul elveţian Albert Hofmann sintetizează pentru prima oară LSD din ergot în laboratoarele Sandoz. Chiar şi în secolul XX s-au înregistrat câteva epidemii grave. Astfel, în 1926 şi 1927 s-au înregistrat cazuri de otrăvire în masă în fosta Uniune Sovietică, cifrele oficiale indicând 11.000 morţi, din cauza pâinii conţinând ergoţi. În 1951, în Pont-Saint-Esprit (Franţa) s-au înregistrat 7 de decese şi 250 de îmbolnăviri din acelaşi motiv (Gabbai *et al.*, 1951). Tendinţa recentă de a consuma alimente naturale crude a avut şi ea urmări nedorite. Astfel în anii 1980 în Germania au fost înregistrate cazuri de otrăvire cu ergot din Müsli, un produs utilizat pentru micul dejun, care conţine secară nefiartă.

Spice de secară cu scleroţi. Organismul propriu-zis al ciupercii *Claviceps purpurea* este miceliul. Ciclul său de dezvoltare începe în spicele de secară. În locul unor seminţe se formează formaţiuni tari care sunt scleroţii ciupercii parazite. Scleroţi sunt organe de rezistenţă ai ciupercii. De pe spicul de secară aceştia cad pe pământ. Fiind organe de rezistenţă, rezistă până primăvara, când vor germina. Sclerotul germinat formează numeroase prelungiri cu o lungime de 2–4 cm, care formează la capete formaţiuni măciucate, de culoare roz. Acestea sunt constituite dintr-o stromă. În interiorul stromei are loc procesul sexual, astfel în urma acestui proces care are loc între *ascogon* şi *anteridie* se formează *hife ascogene*. Din hifele ascogene iau naştere *ascele*. La periferia ascelor apar formaţiuni denumite *peritecii*. Fiecare peritecie se deschide printr-un *osteol* puţin proeminent. Fiecare ască conţine câte 8 *ascospori* cu o formă filamentoasă. Aceşti ascospori, fiind uşori, sunt purtaţi cu uşurinţă de curenţii de aer. Unii dintre ei ajung pe *stigmatele* florilor de secară, unde germinează, formând un filament care se numeşte *filament de infecţiune*. Acest filament pătrunde în ovar unde, din miceliu se diferenţiază *conidiofori* scurţi. Pe aceşti conidiofori se formează *conidii* ovale, unicelulare şi hialine. Conidiile sunt învelite într-un suc zaharat, iar insectele, în căutarea sucurilor dulci, iau pe corpul lor aceste conidii, ajutând la propagarea ciupercii. Conidiile pot germina. Prin germinare produc filamente de infecţie. Aceste filamente au proprietatea de

a infecta celelalte spice, ca şi ascosporii. La sfârşitul perioadei de vegetaţie miceliul ciupercii umple tot spaţiul ovarului astfel că în locul seminţelor se formează scleroţii ciupercii, după care ciclul se reia.

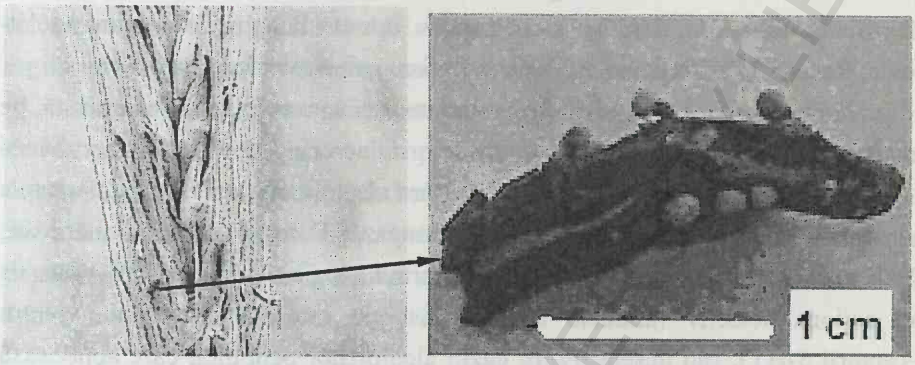


Figura 16. Ergotul pe spicul de secară

Alcaloizii din ergot. Acidul lisergic se găseşte sub forma a doi izomeri optici: acid L-lisergic (activ farmacologic) şi acid D-izolisergic (inactiv farmacologic). Ergolina, cunoscută şi sub denumirea de LSA (monoamida acidului lisergic). Ergometrina (ergonovina, ergobasina), principalul alcaloid din ergot, are proprietăţi ocitocice. Se cunosc astfel, alcaloizii clavinici (agroclavina, festuclavina, elimoclavina) şi alcaloizii lisergici, derivaţi ai acidului lisergic. Amidele acidului lisergic sunt ergometrina, ergina. Tipul radicalilor constituie un criteriu de clasificare a alcaloizilor peptidici.

Proprietăţi fizico-chimice. Alcaloizii de tipul ergometrinei sunt solubili în apă, spre deosebire de alcaloizii peptidici, solubili doar în solvenţi nepolari (eter). Cei mai stabili compuşi includ acidul metansulfonic (mesilaţi). Izomerii *dextro* se transformă în izomeri *levo* sub acţiunea acizilor foarte slabi, cum ar fi acidul acetic. Sub acţiunea alcalilor are loc transformarea inversă, din *levo* în *dextro*.

Extracţie şi identificare. Extracţia are loc fie cu apă (ergometrina), fie cu soluţii de solvent apolar (eter), în cazul alcaloizilor peptidici. Identificarea se poate face prin cromatografie de lichid de înaltă performanţă (HPLC) sau cu ajutorul cromatografiei în strat subţire, evidenţierea spoturilor fiind făcută cu *p*-

dimetilaminobenzaldehidă PABA/H_2SO_4 (culoare albastră rezultată fiind direct proporţională cu procentul de alcaloid-dozare spectrofotometrică) (Krska & Crews, 2008; Lehner *et al.*, 2005). Reactivii de culoare folosiţi pentru identificarea alcaloizilor din ergot dau următoarele colorații: Reactiv Fröhde, albastru violet-verde; H_2SO_4, galben-verde intens; Reactiv Mandelin, violet-verde; Reactiv Wasicky, violet; Reactiv Lafon, galben-verde.

Farmacologie. Alcaloizii din cornul secarei au o activitate fie agonistă, fie antagonistă la nivelul diferiţilor receptori: adrenergici, serotoninergici şi dopaminergici. Aceste efecte depind de natura alcaloidului, concentraţia acestuia şi organele (ţesuturile) asupra cărora acţionează. Datorită nespecificităţii lor, alcaloizii au o mare varietate de acţiuni farmacologice (Linke, 1959). Aceştia pot acţiona selectiv (amidele acidului lisergic prezintă selectvitate pentru receptorii 5-HT), sau neselectiv, în cazul alcaloizilor peptidici, care acţionează atât asupra receptorilor adrenergici, cât şi asupra receptorilor dopaminergici. Modificarea structurii chimice determină schimbarea acţiunii farmacologice.

Astfel, hidrogenarea conduce la micşorarea acţiunii agoniste comparativ cu alcaloizii de bază, iar metilarea în poziţia 1 determină scăderea afinităţii pentru catecolamine. De regulă, alcaloizii naturali cresc activitatea uterului gravid. La administrarea de doze mici, are loc creşterea frecvenţei şi forţei contracţie, urmate de o relaxare. Pe măsura creşterii dozei, contracţiile devin tot mai puternice, mai dese şi de durată mai lungă, efectul fiind susţinerea contracţiilor. Datorită acestor efecte, alcaloizii pot fi utilizaţi postpartum pentru oprirea sângerărilor şi pentru menţinerea contracţiilor.

Efectul asupra aparatului cardiovascular. Dintre alcaloizii ergotului, ergotamina are efect arteroconstrictor şi venoconstrictor. Derivaţii hidrogenaţi ai ergotoxinei determină hipotensiune arterială. Creşterea rapidă a concentraţiei plasmatice după administrarea injectabilă a ergotaminei şi a dihidroergotaminei, conduce la o creştere rapidă a presiunii sanguine, care revine la normal după câteva ore. Cauza este acţiunea asupra receptorilor α_2 adrenergici.

Efectul alcaloizilor din ergot asupra uterului. Ergometrina este mult mai activă şi mai puţin toxică comparativ cu ergotamina. Ergometrina şi derivatul său metilat, metilergometrina, sunt folosiţi în mod normal în obstetrică. Acestea sunt rapid absorbite chiar şi prin administrare orală, vârful plasmatic maxim înregistrându-se între 60-90 minute, timpul de înjumătăţire fiind de circa 2 ore în

cazul ergometrinei. Efectul asupra uterului gravid se observă după 10 minute, în cazul administrării orale (Massopust *et al.*, 1953).

Alcaloizii din ergot şi boala Parkinson. Nucleul ergolinic prezintă asemănări structurale cu unii neurotransmiţători (adrenalina, dopamina şi serotonina) şi, de aceea, derivaţii semisintetici sau sintetici ai alcaloizilor din ergot sunt folosiţi pentru tratarea anumitor simptome ale bolii Parkinson.

Bromocriptina, un antagonist puternic al receptorilor D_2, a fost primul derivat cu nucleu ergolinic studiat pentru tratarea bolii Parkinson; se foloseşte, de regulă, ca terapie adjuvantă la bolnavii trataţi cu levodopa (pentru micşorarea dozei acestui compus). Bromocriptina, pe lângă efectele agoniste pe domeniul dopaminergic, are şi efect inhibitor asupra secreţiei de prolactină.

Figura 17. Bromocriptina

Toxicologie. Intoxicaţiile cu ergot se numesc ergotism. Acesta se datorează efectelor vasoconstrictoare şi halucinogene ale substanţelor farmacologic active din ergot, având două forme de manifestare. Forma gangrenoasă se manifestă cu arsuri la nivelul extremităţilor, cianoza membrelor şi desprinderea cărnii de pe oase, fără sângerare. Forma convulsivantă: debut cu senzaţie de sete foarte accentuată, halucinaţii (intoxicaţii au comportament de păsări), contracţii musculare dureroase.

Conţinutul în alcaloizi al ergotului este în medie de 0,2% din greutatea uscată, dar poate atinge şi 1% din greutatea uscată a ergoţilor. În aceste condiţii, consumarea a 5-10 g de ergoţi poate avea efecte letale. În general, se consideră

BUASM CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

că doza zilnică maximă care nu duce la efecte toxice pentru oameni este de (DL_5) 0,1 mg/kg corp. Pentru cerealele folosite în panificaţie, normele Uniunii Europene indică o valoare maximă de 0,05% Aceste valori ar corespunde unor praguri ale conţinutului total de alcaloizi de 2 mg/kg respectiv 1 mg/kg.

Metabolizare. În metabolizarea alcaloizilor din ergot de către organismul animal, care are loc la nivel hepatic este implicat citocromului P450 (Moubarak *et al.*, 2003; Settivari *et al.*, 2008).

Alţi poluanţi ai mediului

Detergenţii sunt substanţe tensioactive ce conţin în moleculă un fragment hidrofil şi unul hidrofob. Interes toxicologic major prezintă detergenţii cationici (DL_{50} = 0,05-0,50g/kg), urmaţi de detergenţii anionici (DL_{50} = 2-7g/kg), în timp ce detergenţii neionici sunt practic netoxici (DL_{50} 50 g/kg).

Detergenţii cationici pot determina colaps (acţiune ganglioplegică) şi paralizie respiratorie (acţiune curarizantă).

Fiind substanţe tensioactive, detergenţii facilitează absorbţia digestivă sau cutanată a substanţelor insolubile, favorizînd producerea efectelor toxice (cancerigene) ale acestora.

Primul ajutor constă în spălătura gastrică şi purgativ salin. Antidotul pentru detergenţii cationici constă într-o soluţie de săpun, 5g în 20 ml apă, apoi provocare de vărsături.

Substanţele toxice de luptă se clasifică în letale şi neletale, în raport cu acţiunea toxică dominantă. De asemenea, acestea pot fi persistente (iperita) sau trecătoare (fosgenul).

Proprietăţile fiziologice care caracterizează o substanţă toxică de luptă sunt: *pragul de iritaţie*, reprezentat de concentraţia (mg/m^3 aer) la care este sesizabil efectul toxic şi se produce un reflex de apărare, *limita de suportabilitate*, dată de concentraţia minimă (mg/m^3 aer) la care atmosfera nu poate fi suportată timp de un minut, *produsul letal*, reprezentat de concentraţia (mg/m^3 aer) care, inspirată timp de un minut, produce moartea în următoarele 48 de ore.

Substanţe neuroparalitice (organofosforice, anticolinesterazice) sunt grupate în substanţe de tip G-esteri organofosforici asemănători structural cu

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

insecticidele organofosforice şi substanţe de tip V-esteri organofosforici ai tiocolinei. Ambele au caracter persistent sau semipersistent.

Acţiunea lor, de a inhiba colinesteraza, este identică cu cea a insecticidelor organofosforice, de aceea se aplică aceleaşi măsuri de prim ajutor şi aceleaşi antidoturi.

Substanţele cu acţiune toxică generală (HCN şi ClCN) sunt inhibitori ai respiraţiei celulare. Deoarece HCN are o persistenţă scăzută, se utilizează un amestec de HCN (50%), $AsCl_3$ (30%), $SnCl_2$ (15%) şi $CHCl_3$ (5%) sub numele de Vincenită. ClCN are o persistenţă de câteva minute fiind nestabil din punct de chimic.

Substanţele vezicante manifestă o acţiune toxică generală, alături de una vezicantă şi ulcerativă asupra tegumentelor şi a mucoaselor, prin perturbarea proceselor redox din organism.

Simptomatologia constă din leziuni ale tegumentelor (eritem, vezicule, lictene) şi ale mucoaselor oculare şi respiratorii, până la edem pulmonar.

Primul ajutor constă în decontaminarea tegumentelor cu multă apă şi săpun, a mucoaselor cu apă sau acid boric 3%, neutralizarea cu soluţii oxidante (cloramina, 5-10%) şi administrarea de DMP după schema de la arsen.

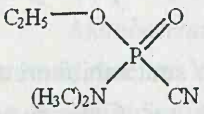
Substanţele sufocante se comportă asemănător clorului, însă prezintă o toxicitate mai înaltă.

Substanţele lacrimogene sunt în general compuşi halogenaţi care determină iritaţia mucoasei oculare.

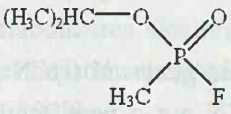
Substanţele strănutătoare sunt arsine terţiare AsR_3 (R=Halogen, CN sau radicali organici) care provoacă, după o perioadă de latenţă, senzaţie de arsuri în nas, faringe, trahee, apoi tuse, strănut, hipersalivaţie şi hiersecreţie nazală.

Substanţele vomitive determină iritaţia gastrică.

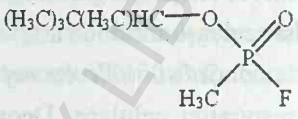
Substanţele psihochimice scot inamicul din luptă pentru un timp. Dintre acestea, *neurolepticele* (rezerpina) creează o stare de apatie, în timp ce *psihoanalepticele* (tip amfetamină) determină agitaţia psihomotorie însoţită de teamă, instabilitate psihică, confuzie mintală. *Psihodislepticele* produc perturbări ale activităţii psihice, cu stare de depersonalizare, de percepere anormală a timpului şi spaţiului, halucinaţii cu caracter fantastic sau terifiant. Se folosesc de regulă psihodisleptice cu structură fenilalchilaminică, de tipul mescalinei.



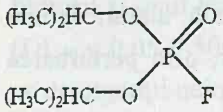
Tabun
(esterul etilic al acidului dimetilaminocianfosforic)



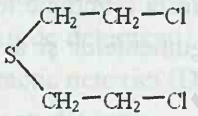
Sarin
(esterul izopropilic al acidului metilfluorofosforic)



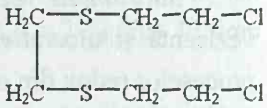
Saman
(esterul izopinacolinic al acidului metilfluorofosforic)



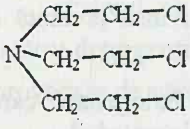
DFP
(esterul diizopropilic al acidului fluorofosforic)



S-Iperita
(2,2'-dicloretilsulfura)

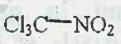


Q-Iperita
(1,2-bis(2-clortioetil)etan)



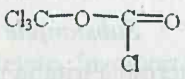
N-Iperita
(2,2',2"-tricloretilamina)

Levizita
(2-clorvinil diclorarisina)



Cloropicrina
(triclornitrometan)

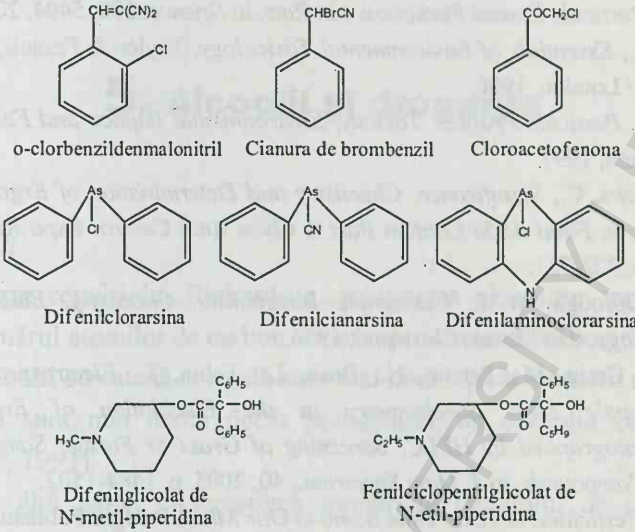
Fosgen
(oxiclorura de carbon)



Difosgen
(cloroformiat de triclormetil)

Figura 18. Substanţele toxice de luptă letale

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY



o-clorbenzildenmalonitril | Cianura de brombenzil | Cloroacetofenona

Difenilclorarsina | Difenilcianarsina | Difenilaminoclorarsina

Difenilglicolat de N-metil-piperidina

Fenilciclopentilglicolat de N-etil-piperidina

Figura 19. Substanţe toxice de luptă neletale

Bibliografie

Adam, D., *Pesticide Use Linked to Parkinson's Disease*, *Nature*, 408, 6809, 2000, p. 125.

Andrei, A.S., *Aspecte biochimice şi ecologice ale ciupercii fitopatogene Claviceps purpurea*, în *Contribuţii Botanice*, 45, 2010, p. 87-99.

Bandyopadhyay, R., Frederickson, D.E., McLaren, N.W., Ryley, M.J. Ergot, *A New Disease Threat to Sorghum in the Americas and Australia*, în *Plant Disease*, 82, 1998, p. 356-367.

Brown, A.W.A., *Ecology of Pesticides*, John Wiley, New York / Chichester / Birsbane / Toronto, 1978.

Dobrescu, D., *Alcaloizii cornului secarei*, în *Farmacoterapie practică*, II, Editura Medicală, 1989.

Fest, C., Smith, K.J., *The Chemistry of Organophosphorous Pesticides. Reactivity. Synthesis. Mode of Action. Toxicology*, Springer Verlag, Berlin / Heidelberg / New York, 1973.

Gabbai, J., Lisbonne, L., Pourquier, F., *Ergot Poisoning at Pont St. Esprit*, în *Br Med J.*, 2, 1951, p. 650-651.

Gilden, R.C., Huffling, K., Sattler, B., *Pesticides and Health Risks*, în *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs*, 39, 2010, p. 103-110.

Greene, S.A., Pohanish, R.P. (ed), *Sittig's Handbook of Pesticides and Agricultural Chemicals*, SciTech Publishing, Inc., Norwich, NY, 2005.

Hansen, L.G., *Persistent Organic Pollutants in Food Supplies*, în *J. Epidemiol. Community Health*, 56, 2002, p. 820-821.

BCU CLUJ / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Helmuth, L., *Pesticide Causes Parkinson's in Rats*, în *Science*, 290, 5494, 2000, p. 1068.

Hughes, W.W., *Essentials of Environmental Toxicology*, Taylor & Francis, Washington / Bristol / London, 1996.

Kamrin, M.A., *Pesticide Profiles: Toxicity, Environmental Impact, and Fate*, CRC Press, Cleveland, 1997.

Krska, R., Crews, C., *Significance, Chemistry and Determination of Ergot Alkaloids: A Review*, în *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.*, 25, 2008, p. 722-731.

Kuhr, R.J., Dorough, W.H., *Carbamate Insecticides. Chemistry, Biochemistry, and Toxicology*, CRC Press, Cleveland, 1976.

Lehner, A.F., Craig, M., Fannin, N., Bush, L., Tobin, T., *Electrospray[+] Tandem Quadrupole Mass Spectrometry in the Elucidation of Ergot Alkaloids Chromatographed by HPLC: Screening of Grass or Forage Samples for Novel Toxic Compounds*, în *J. Mass Spectrom.*, 40, 2005, p. 1484-1502.

Levine, M.J., *Pesticides: A Toxic Time Bomb in Our Midst*, Praeger Publishing, 2007.

Linke, H., *Capillary Damage by Ergotamine Tartrate Poisoning*, în *Dtsch Gesundheitsw.*, 14, 1959, p. 2196-2198.

Martin, H. (ed.), *Pesticide Manual*, British Crop Protection Council, London, 1968.

Martin, H., Waorthing, C.R. (eds.), *Insecticide and Fungicide Handbook*, Blackwell, Oxford / London / Edinburgh / Melbourne, 1974.

Massopust, L.C. Jr, Sommer, A.F., Willson, J.T., Buchanan, A.R., *Incidence of Tail Gangrene in Thyroxin-treated Rats Following Administration of Natural and Hydrogenated Alkaloids of Ergot*, în *J. Int. Coll. Surg.*, 19, 1953, p. 592-598.

Moubarak, A.S., Rosenkrans, C.F. Jr, Johnson, Z.B., *Modulation of Cytochrome P450 Metabolism by Ergonovine and Dihydroergotamine*, în *Vet. Hum. Toxicol.*, 45, 2003, p. 6-9.

Popa G., Segal B. *Toxicologia produselor alimentare*, Editura Academiei, Bucureşti, 1986.

Popa, G., Drimus, R., *Chimia produselor fitofarmaceutice*, Editura Tehnică, Bucureşti, 1965.

Schueuermann, G., Markert, B., *Ecotoxicology*, Wiley, New York / Chichester / Weinheim / Brisbane / Singapore / Toronto, 1997.

Settivari, R.S., Evans, T.J., Rucker, E., Rottinghaus, G.E., Spiers, D.E., *Effect of Ergot Alkaloids Associated with Fescue Toxicosis on Hepatic Cytochrome P450 and Antioxidant Proteins*, în *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 227, 2008, p. 347-356.

Toxicity of Pesticides. Pesticide Fact Sheets and Tutorial, Module 4, Pesticide Safety Education Program, Cornell University, 2007.

Walker, C.H., Hopkin, S.P., Sibly, R.M., *Principles of Ecotoxicology*, Taylor & Francis, Bristol / London, 1997.

BCU ALICANTE UNIVERSITY LIBRARY

5. Alcoolii şi drogurile

Alcoolii

Conform regulii lui Richardson, toxicitatea alcoolilor monoxidroxilici creşte cu numărul atomilor de carbon, cu excepţia metanolului care este deosebit de toxic. Alcoolii cu catenă normală sunt mai toxici decât izomerii ramificaţi, iar monoalcoolii sunt mai toxici decât polialcoolii, cu excepţia etilenglicolului (Cotrău *et al.*, 1993).

Pe de altă parte, cu creşterea numărului de atomi de carbon creşte liposolubilitatea alcoolilor şi, implicit, toxicitatea lor la nivelul SNC. Alcoolii C_1-C_3 sunt solubili în apă şi slab narcotici. Metaboliţii lor au grade diferite de toxicitate, iar viteza mică de metabolizare asociată cu o eliminare lentă sporeşte toxicitatea în cazul metaboliţilor toxici.

Diferenţele dintre gradele de toxicitate ale alcoolilor sunt nete: etilenglicolul este un toxic puternic, în timp ce glicerina este absorbită în doze înalte fără efecte nocive; metanolul este o otravă recunoscută, în timp ce etanolul este consumat curent pentru a crea o stare euforică. Structura chimică poate explica numai parţial această comportare. Metaboliţii lor pot explica însă, în mare măsură, toxicitatea alcoolilor. Efectul alcoolilor asupra organismului, cum ar fi efectul euforic al etanolului imediat după introducerea în corp este mai greu de explicat. Gustul arzător al etanolului, precum şi gustul dulce al etilenglicolului şi al glicerinei pot fi conferite acestor substanţe de capacitatea moleculelor lor de a vibra în rezonanţă cu anumiţi receptori moleculari aflaţi la nivelul papilelor gustative. Din păcate, cercetările în acest domeniu sunt încă în fază iniţială sau nu interesează în mod deosebit comunitatea ştiinţifică. De exemplu, efectul vasodilatator periferic al alcoolului ar putea fi explicat prin perturbarea structurilor de apă inclusă în biostructura celulelor şi, implicit, prin perturbarea stării de excitaţie tripletică a moleculelor biologic active. O nouă serie de cercetări este aşteaptată în acest domeniu.

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Alcoolul metilic, CH_3OH

Metanolul este un lichid volatil, inflamabil, cu miros şi gust asemănător etanolului, dar mai puternic şi mai iritant. Este miscibil cu apa şi majoritatea solvenţilor organici.

Toxicocinetică. Metanolul pătrunde pe cale digestivă, respiratorie şi, mai rar, transcutanată. Este distribuit, datorită hidrosolubilităţii sale, în toate ţesuturile şi, în special, în lichidele oculare care conţin 99,7% apă. În ficat, sub acţiunea alcooldehidrogenazei (ADH) şi mai puţin a catalazei, se oxidează la formaldehidă, iar aceasta trece în acid formic, ambii metaboliţi fiind hidrosolubili; în procesul de metabolizare a metanolului apare şi formiatul de metil, liposolubil, în cantităţi mici. Toţi metaboliţii sunt mai toxici decât metanolul. Oxidarea la formaldehidă are loc şi în retină (în conuri şi bastonaşe) unde este prezentă ADH şi determină orbire, deoarece formaldehida este extrem de toxică.

Eliminarea metanolului şi a metabolitilor săi are loc prin expiraţie (metanol) şi prin urină (metaboliţii şi mici cantităţi de metanol). Eliminarea metanolului din organism se produce în proporţie de 25-75% sub formă nemodificată în aerul expirat, în urină 3-10% ca atare, în timp ce 3% se regăseşteîn urină sub formă metabolizată (acid formic). Deoarece metabolizarea şi eliminarea sunt lente, metanolul se comportă ca un toxic cumulativ.

Rolul de antidot al alcoolului etilic în intoxicaţia cu metanol se explică prin competiţia pentru ADH: etanolul se metabolizează de 4-5 ori mai rapid, astfel încât metanolul rămâne nemetabolizat. Metanolul se comportă ca un toxic cumulativ cu eliminare foarte lentă, spre deosebire de etanol. De asemenea, etanolul având o tensiune superficială mai mare, deplasează metanolul de pe suprafaţa celulelor, favorizându-i eliminarea.

*Toxicodinamie.*Toxicitatea metanolului se datorează metaboliţilor săi care produc acidoză, anoxie celulară şi dereglări metabolice. Acidoza este provocată mai ales de acidul formic.

Anoxia tisulară este consecinţa inhibării respiraţiei celulare prin complexarea fierului din enzimele oxido-reducătoare de către acidul formic. Retina este de asemenea afectată deoarece este sensibilă la anoxie, iar pătrunderea metanolului la acest nivel şi metabolizarea locală determină o concentraţie maximă de metaboliţi toxici. Totodată, pătrunderea formiatului de

BCU CLUJ CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

metil liposolubil afectează şi nervul optic. Ca urmare, apar leziuni degenerative în celulele ganglionare ale retinei şi în nervul optic, precum şi tulburări circulatorii în caroide. Se mai înregistrează tulburări nervoase, hepatice, renale, pulmonare şi miocardice, multe dintre acestea datorându-se hipoxiei. Totodată, sunt dereglate unele procese biochimice datorită blocării grupelor $-NH_2$ enzimatice de către formaldehidă, HCHO.

Doza letală de metanol este de 30 ml pentru un om normal.

Simptomatologie. În intoxicaţia acută prin ingerare apar, după o perioadă de latenţă, tulburări digestive, respiratorii, neuropsihice (agitaţie, delir, convulsii), cardiovasculare, apoi comă şi moarte. Dacă victima supravieţuieşte, se instalează tulburările oculare (midriază, fotofobie, scăderea acuităţii vizuale, dureri în globii oculari), urmate brusc sau treptat de orbire temporară sau definitivă. Tulburările oculare apar ca urmare a acidozei, deoarece se accentuează odată cu aceasta. Intoxicaţia acută prin inhalare se exprimă prin iritaţia ţesuturilor conjunctivelor şi a mucoaselor respiratorii, tulburări nervoase şi oculare (orbirea definitivă este mai puţin frecventă). Concentraţia maximă admisibilă este de 150 mg/m^3. În intoxicaţia cronică apar fenomene iritative, nervoase (cefalee, tremor), digestive, vizuale (reducerea câmpului vizual).

Primul ajutor. În intoxicaţia prin ingerare se practică spălătură gastrică cu soluţie de $NaHCO_3$ 5%, purgativ salin şi tratament antidotic cu etanol, iniţial 50 g, apoi câte 10 g /oră. În intoxicaţia prin inhalare se recurge la oxigenoterapie şi /sau respiraţie artificială.

Toxicologie analitică. Metanolul se cercetează din aer (recoltare în apă distilată) şi medii biologice, corpuri delicte (distilare în mediu acid). Identificarea se realizează prin reducerea $K_2Cr_2O_7$ în H_2SO_4 concentrat (prezenţa ionilor Cr^{3+} dau coloraţia verde) sau prin oxidarea CH_3OH la HCHO şi determinarea acesteia cu fenilhidrazină sau acid cromotropic în mediu de acid sulfuric. Se mai utilizează tuburi detectoare Dräger cu indicativul 100/a.

Etanolul, CH_3CH_2OH

Intoxicaţiile etilice se produc prin ingerare voluntară de băuturi alcoolice, iar acestea sunt acute şi cronice (alcoolism).

Etanolul este un lichid incolor, d = 0,788, volatil (p.f. 78,3 °C), cu gust arzător, miros specific, miscibil cu apa.

Toxicocinetică. Etanolul este imediat absorbit şi distribuit în toate ţesuturile, fără acumulare. Se elimină prin expiraţie (3-7%) şi urină (2-4%), restul fiind metabolizat în ficat, succesiv la acetaldehidă, acid acetic şi bioxid de carbon. Dacă oxidarea la acetaldehidă se realizează, la concentraţii mici de alcool, sub acţiunea alcooldehidrogenazei (ADH); la concentraţii mai mari de etanol, intervin sistemul microzomial de oxidare (MEOS) şi catalaza (CAT) .

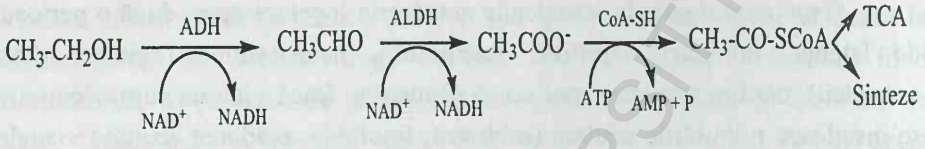


Figura 1. Reacţii implicate în biotransformarea etanolului

unde: ADH-alcooldehidrogenaza; ALDH-aldehiddehidrogenaza; CoA-SH este coenzima A; NAD^+,NADH-nicotinamida adenindinucleotidului oxidat şi redus; AMP-adenozinmonofosfat; ATP-adenozintrifosfat; P-fosfat anorganic; TCA-ciclul acizilor tricarboxilici (ciclul Krebs).

Datorită conţinutului constant de ADH din ficat, oxidarea etanolului are loc cu viteză aproape constantă de 8 g etanol/oră.

$$CH_3\text{-}CH_2OH + NAD^+ \xrightarrow{ADH\ (citozol)} CH_3\text{-}CHO + NADH + H^+$$

$$CH_3\text{-}CH_2OH + H_2O_2 \xrightarrow{CAT\ (mitocondrie)} CH_3OH + 2H_2O$$

$$CH_3\text{-}CH_2OH + O2 + H^+ + NADPH \xrightarrow{MEOS\ (microzomial)} CH_3\text{-}CHO + NADP^+ + 2H_2O$$

Figura 2. Oxidarea etanolului la acetaldehidă

Toxicodinamie. Etanolul are un efect deprimant asupra SCN. Această acţiune începe cu scoarţa cerebrală şi se continuă până la bulb. Inhibarea centrilor superiori, cu funcţii de coordonare şi control, antrenează şi relaxarea centrilor inferiori, fapt ce explică efectul aparent stimulator al băuturilor alcoolice.

Etanolul acţionează toxic atât prin molecula netransformată, prin acetaldehidă, cât şi prin creşterea raportului $NADH/NAD^+$.

Acetaldehida este în majoritate transformată în acetat. Cantităţi infime reacţionează cu catecolaminele şi cu cataboliţii lor formând compuşi tetrahidropapaverolinici cu grupările –SH din glutationul redus şi coenzima A, scazându-le activitatea, şi cu $–NH_2$ din proteine şi enzime, degradându-le structural şi funcţional (Cotrău, 1983).

Oxidarea etanolului la acetaldehidă sub acţiunea ADH, respectiv ALDH, necesită prezenţa NAD^+, care se reduce la $NADH+H^+$. În cazul metabolizării unor mici cantităţi de alcool etilic, reoxidarea NADH în citoplasmă are loc pe seama compuşilor în formă „oxidată", a acidului piruvic, şi a fosfodihidroxiacetonei. Deoarece aceşti compuşi sunt în cantităţi limitate, reoxidarea NADH în prezenţa unor mai mari cantităţi de alcool nu se mai face în totalitate în citoplasmă, ci se completează în mitocondrii. Membrana mitocondrială este însă impermeabilă pentru NADH şi, de aceea, celula utilizează sistemul malat-aspartat care realizează transferul atomilor de hidrogen de la NADH citoplasmatic la NAD^+ intramitocondrial. Reacţiile înlănţuite prezentate în acestă figură asigură oxidarea etanolului fără acumulare de NADH numai atât timp cât nu este depăşită capacitatea de oxidare a lanţului respirator. Pentru cantităţi mai mari de etanol însă, NADH se acumulează în citoplasmă şi în mitocondrii, cu creşterea valorii raportului $NADH/NAD^+$. Această creştere conduce la perturbarea ciclului Krebs, a metabolismului glucidic şi lipidic, constituind „toxicitatea biochimică" determinată de consumul excesiv de alcool, având drept consecinţă acumularea de acetat (care nu mai poate fi oxidat în ciclul Krebs), hiperlactacidemie şi hipoglicemie (prin perturbarea glicolizei şi a neoglicogenezei, acumularea lipidelor în hepatocit, cu apariţia steatozei).

Deoarece ADH catalizează transformarea retinolului în retinal, blocarea sa în procesul de oxidare a etanolului conduce la un deficit de retinal. Retinalul este însă indispensabil procesului vederii şi spermatogenezei, ceea ce explică amauroza etilică şi perturbarea spermatogenezei din intoxicaţia etilică. Doza letală este de 4-6 g etanol pur/kg corp. Foarte multe dezbateri asupra alcoolismului şi a nocivităţii alcoolului etilic apar pe internet (prima referinţă bibliografică).

BCU MEDICINA LIBRARY

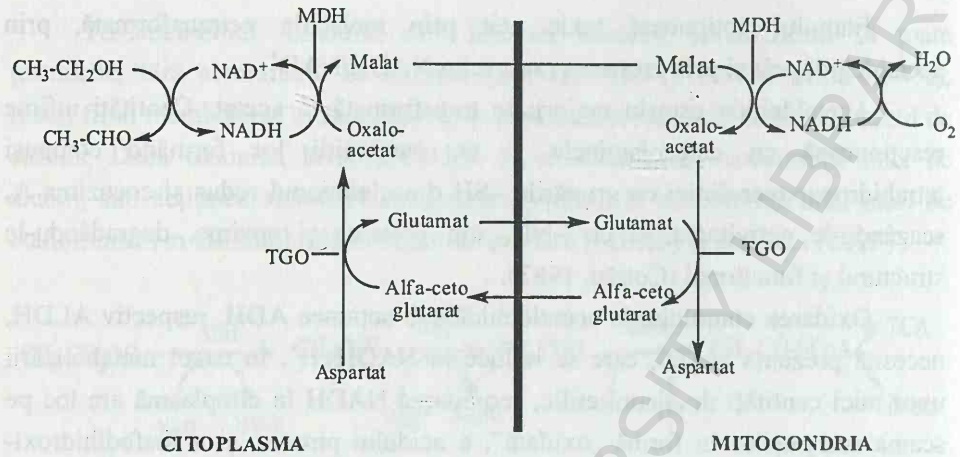


Figura 3. Reoxidarea NADH la NAD^+ prin intermediul sistemului malat-aspartat (după Nordmann)

Simptomatologie .În intoxicaţia acută se remarcă trei faze: faza de „excitaţie" la o alcoolemie de 0,5-1,5‰ cu euforie, logoree, expansivitate, senzaţie de căldură (vasodilataţie periferică), diminuarea capacităţilor fizice şi psihice; faza medico-legală (faza de „beţie", alcoolemie 1,5-2,5‰), cu mers ebrios, disartrie, confuzie mintală, scăderea acuităţii auditive şi vizuale, tulburări psihice ducând până la acte agresive; faza comatoasă (peste 2,5 ‰) cu midriază, hipotermie (prin vasodilataţie generalizată), comă, uneori cu sfârşit letal. Alcoolemiile peste 4‰ (300-400 mL alcool pur) conduc rapid la comă şi la moarte.

În intoxicaţia cronică se observă manifestări neuropsihice (polinevrită, nevrită optică retrobulbară, tulburări de comportament, insomnie, delirium tremens şi manifestări organosomatice (gastrite, ulcere, hepatită subacută până la ciroză, tulburări cardiovasculare, endocrine etc.). Alcoolismul reprezintă o „toxicomanie", denumită „incapacitate legată de alcool".

Primul ajutor. În primele două ore de la ingerare, se recurge la spălătură gastrică cu soluţie de $NaHCO_3$ de 5%. Intoxicaţii comatoşi sunt spitalizaţi.

Toxicologie analitică. Etanolul se cercetează din aer, medii biologice şi corpuri delicte (distilare în mediu acid). Identificarea se realizează prin reacţia xantogenatului sau reducerea $K_2Cr_2O_7$, iar dozarea, enzimatic (cu ADH, gaz-

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

cromatografic, colorimetric sau volumetric (prin dozarea excesului de $K_2Cr_2O_7$ rămas după oxidarea etanolului în mediu acid).

Etilenglicolul, $HO\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}OH$

Etilenglicolul este un lichid incolor, vâscos, cu gust dulceag. Este relativ miscibil cu apa, alcoolul etilic, acetona, acidul acetic, glicerina şi piridina. Este insolubil în eter etilic, CS_2, hidrocarburi halogenate, uleiuri şi hidrocarburi aromatice. Etilenglicolul este utilizat ca solvent şi ca lichid antigel. Concentraţia maximă admisibilă este de 274 mg/m^3 aer.

Toxicocinetică. Pătrunderea etilenglicolului în organism se face pe cale digestivă şi numai accidental respiratorie. Se distribuie în toate ţesuturile. Se elimină 40% renal nemodificat, iar 60% se metabolizează oxidativ, iniţial la aldehidă glicolică sub acţiunea alcooldehidrogenazei (ADH) cu viteză mică (ceea ce explică efectul antidotic al etanolului, ca şi la metanol), apoi parţial la acid oxalic, trecând prin acid glioxilic.

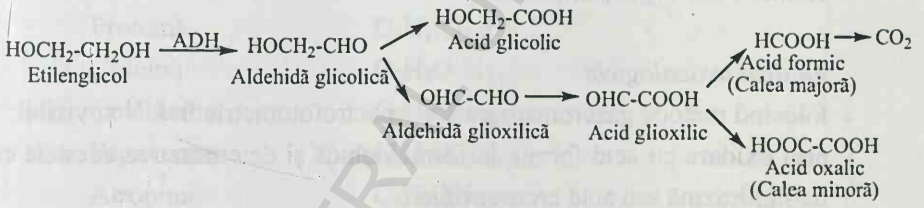


Figura 4. Biotransformarea-etilenglicolului

Acidul oxalic formează cu calciul oxalat de calciu care obstrucţionează tubii renali şi afectează miocardul şi alte organe.

Toxicodinamie. Toxicitatea etilenglicolului poate fi pusă pe seama metaboliţilor săi mai toxici: acidul glioxilic şi acidul oxalic. Etilenglicolul conduce la edem cerebral. Doza letală la adult este de 100 g.

Leziunea principală este necroza tubulară acută, iar pe plan metabolic, acidoza metabolică. Intoxicaţia acută determinată de ingerarea etilenglicolului debutează prin tulburări digestive, apoi neuropsihice (de la euforie până la comă convulsivă), acidoză, manifestări cardiovasculare (tulburări de ritm, insuficienţă acută cardiovasculară) şi insuficienţă renală acută, adesea fatală.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Insuficienţa cronică apărută în cazul inhalării repetate de vapori de etilenglicol se manifestă prin tulburări ale sistemului nervos cu pierderea temporară a cunoştinţei, inapetenţă, somnolenţă, greţuri şi dureri de cap. În unele cazuri se observă modificări ale formulei hematologice, rinite şi conjunctivite, modificări ale funcţiilor hepatice şi ale splinei şi anomalii în depunerea fierului în organism.

Primul ajutor:

- se limitează la maxim efortul fizic al accidentatului;
- se administrează apă şi se provoacă vărsături;
- se aplică spălătură gastrică cu suspensie de cărbune activat sau soluţie de $KMnO_4$;
- administrarea de purgative saline;
- se recomandă un aport de lichide;
- se administrează ca antidot, alcool etilic 50% *per os*, 0,75 mL/kg corp;
- oxigenoterapie sau respiraţie artificială;
- se anunţă de urgenţă medicul.

Analiza toxicologică:

- folosind metode gazcromatografice, spectrofotometrie în UV şi vizibil;
- prin oxidare cu acid formic la formaldehidă şi determinarea acesteia cu fenilhidrazină sau acid cromotropic.

Alcaloizii

Noţiunea de alcaloid a fost introdusă de Meissner în 1818. Alcaloizii sunt substanţe organice heterociclice cu azot, de origine vegetală, cu caracter bazic, rezultate în urma metabolismului secundar al plantelor, care dau reacţii caracteristice şi au acţiune asupra organismelor animale, de cele mai multe ori de natură toxică. Plantele sunt caracterizate prin hidraţi de carbon şi numai acolo unde există asemănări structurale cu sfera animală se produce mai intens proteină, o substanţă tipic animală (Hauschka, 1942).

Structural, în floare au loc degradări ale compuşilor mai complicaţi cu formare de aldehide, eteri, esteri, în general cu structură chimică mai simplă. La toate florile care se deschid normal, depozitarea proteinei are loc în seminţe. Există însă unele plante care prezintă forme ce amintesc de sfera animală mai

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

mult decât este normal. De pildă, degeţelul, brânduşa de toamnă, omagul, măselariţa, tutunul etc., prezintă flori în formă de pahar, uneori sub formă de gaură închisă. Acolo unde se află floarea, se produce o cantitate mai mare de proteine. Dacă procesele tipic animale se manifestă asupra acestor proteine, acestea se degradează la fel cum se petrec lucrurile în sfera animală. Însă această degradare nu poate fi definitivă, până la NH_3 şi CO_2, deoarece planta nu are mecanismele necesare pentru astfel de transformări. Din această cauză, în plantele parţial înrudite cu sfera animală, se elimină din proteine doar elementele H şi O, componente principale ale hidraţilor de carbon, cu producerea de alcaloizi toxici.

O comparaţie a formulei brute a diferitelor otrăvuri din plante cu formula brută a proteinei conduce la o imagine intuitivă a acestei degradări treptate a proteinei. În acest scop, se consideră formula proteinei: $C_{720}H_{1134}O_{248}N_{218}$ sub formă prescurtată, $C_7H_{11}O_{2,5}N_2$ şi pe aceeaşi cale, formulele diferitelor otrăvuri din plante:

Proteină	$C_7H_{11}O_{2,5}N_2$
Cofeină	$C_7H_9O_2N_{3,5}$
Colchicina	$C_7H_8O_2N_{0,3}$
Papaverina	$C_7H_7O_{1,5}N_{0,3}$
Atropina	$C_7H_9ON_{0,5}$
Codeina	C_7H_9ON
Morfina	C_7H_8ON
Tebaina	$C_7H_7ON_{0,3}$
Chinina	$C_7H_8O_{0,7}N_{0,7}$
Stricnina	$C_7H_7O_{0,7}N_{0,7}$
Nicotina	$C_7H_{10}N_{1,5}$
Ionul cian	C_7—N_7

Din acest exemplu, se poate înţelege, potrivit lui Hauschka (1942; 2007), cum între ambele capete ale acestei serii, între proteină şi cian, cea mai toxică specie, există toate gradele degenerării proteinei, care sunt substanţe cu proprietăţi de alcaloid.

Mai mult, proteina animală scoasă din domeniul vieţii şi degradată în mediul extern devine ptomaină (otravă din cadavre). Aceste ptomaine sunt înrudite structural cu otrăvurile din plante.

Prin aceasta, Hauschka a încercat să sugereze că unor aspecte structurale similare, din plantă sau animal, le corespund anumite procese care conduc la toxine, lămurind astfel apariţia alcaloizilor în plante. Astfel de cercetări sunt de asemenea în fază incipientă şi de pildă, studiul reacţiilor proteinelor cu sodiul poate dezvălui multe aspecte similare, sodiul având o afinitate imensă faţă de gruparea HO şi faţă de H_2O, şi conduce la formarea de cian dacă este încălzit cu proteinele.

Alcaloizii se află în vacuolele plantelor, sub forma de săruri cu diferiţi acizi, cum ar fi acizii benzoic, citric, meconic, tartric etc., sau în combinaţii tanice, însă se mai pot găsi şi sub formă de baze cuaternare sau terţiare.

Toxicitatea alcaloizilor

Alcaloizii sunt foarte toxici în doze relativ mici şi pot acţiona asupra diferitelor sisteme. Astfel, *vincristina* are efecte neurotoxice centrale, *vinblastina* (alcaloid antimitotic) este un puternic leucopeniant şi determină tulburări gastrointestinale şi neurologice, *aconitina* este un toxic al centrilor bulbari, iar *chinina* şi *morfina* determină depresia respiratorie. Pe de altă parte, *cocaina* şi*morfina* determină farmacodependenţă.

Se consideră că alcaloizii sunt substanţe de apărare ale plantelor împotriva dăunatorilor, ei fiind toxici pentru majoritatea animalelor. Totuşi, iepurii pot consuma frunze de *Atropa belladonna*, fără a suferi intoxicaţii datorită posesiei unei enzime numită tropanon esterază. Alţi cercetători consideră alcaloizii ca depozite ale azotului organic, dar există şi ipoteza că ar avea un anumit rol în transformările biosintetice ale unor substanţe, sau poate că acestea asigură protecţia plantelor împotriva acţiunii nocive a oxigenului singlet $^1O_2$. Datorită faptului că structura alcaloizilor este extrem de variată, acţiunea lor este de asemenea complexă. Aceşti compuşi acţionează asupra SNC (alcaloizi stimulanţi de tipul cafeinei şi stricninei sau au acţiune depresoare, specifică morfinei. Alţi alcaloizi sunt simpatomimetici (cocaină, efedrină), simpatolitici (yohimbină), anticolinergici (atropină), ganglioplegici (nicotină, sparteină). Alcaloizii din *Secale cornutum* acţionează asupra receptorilor adrenergici,

dopaminergici sau serotoninergici. În plus, vinblastina şi vincristina au o acţiune citostatică asupra unor tipuri de celule maligne. Alcaloidul chinină acţionează ca antiparazitar.

De regulă, alcaloizii sunt izolaţi din Angiospermae, 10-15% din aceste plante putând sintetiza alcaloizii, o tendinţă pronunţată de biosinteză fiind remarcată la *Annonaceae*, *Apocynaceae*, *Asteraceae Papaveraceae, Solanaceae, Liliaceae* etc. Concentraţiile în alcaloizi variază în limite foarte largi, de obicei în plante se găsesc amestecuri de alcaloizi în care un alcaloid este majoritar. Alcaloizii au o răspândire inegală în organele plantelor. De exemplu, chinina este prezentă numai în scoarţă, dar lipseşte în frunze.

În anul 1817, în Germania, Sertürner extrage din opiu un principiu pe care îl numeşte *morphium* după Morfeu, zeul nopţii şi al somnului, care subliniază efectul de bază al morfinei. Este debutul studiului alcaloizilor, iar de aceşti compuşi azotaţi îşi leagă numele numeroşi oameni de ştiinţă: chimiştii şi farmaciştii Pelletier şi Caventou, Woskressenski, Dumas, Robiquet, Laurent, Gerhardt, Lassaigne etc. În 1818, Caventou şi Pelletier au descoperit stricnina, izolată din Nux vomica. În 1820, Runge extrage chinina din scoarţa de quinquina (*Cinchona succirubra*) şi cafeina din cafea (*Coffea arabica*). În 1827, Gieseke extrage coniina din cucută (*Conium maculatum*), Passell şi Reinmann separă nicotina (1828) din tutun (*Nicotiana tabacum*), în timp ce în 1831 Mein obţine atropina din beladonă.

Alcaloizii din cornul secarei

Alcaloizii din ergot au fost trataţi la implicaţiile toxicologiei în agricultură. Pe scurt, cornul (ergotul) de secară reprezintă sclerotul ciupercii parazite *Claviceps purpurea*, care se dezvoltă pe toate gramineele, în special pe secară. În mod empiric, cornul de secară a fost folosit la producerea contracţiilor uterine, cu mult înainte de recunoaşterea sa oficială ca ocitocic (1808).

S-au izolat din cornul de secară 12 alcaloizi de importanţă terapeutică, formând 6 perechi de izomeri, fiecare pereche fiind constituită dintr-un izomer levogir, activ (sufixul „ina") şi unul dextrogir, inactiv (cu sufixul „inina"). Izolarea în stare pură se datorează lui Jacobs şi lui Stoll (1918-1950).

Se consideră în prezent, din punctul de vedere al chimiei organice, că alcaloizii din ergot sunt derivaţi ai acidului lisergic (izomerii levogiri) şi ai

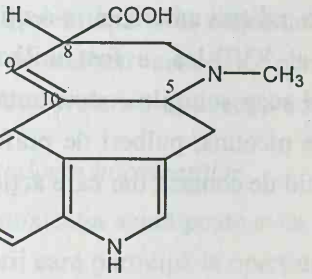
acidului izolisergic (izomerii dextrogiri). Acizii lisergici conţin un nucleu indolic condensat cu un nucleu chinolinic parţial hidrogenat şi se diferenţiază prin poziţia sterică a substituenţilor din C_8. Prezenţa unui atom de carbon asimetric în poziţia 5 dă posibilitatea formării a câte două perechi de izomeri sterici: doi proveniţi de la acidul lisergic şi doi de la acidul izolisergic. De fapt, acidul lisergic şi acidul izolisergic se obţin din astfel de alcaloizi şi nu invers. Alcaloizii se obţin în corpul ciupercii printr-o succesiune specifică de reacţii de condensare a aminoacizilor. Cu alte cuvinte, din aminoacizi se obţin compuşi de degradare care trebuie îndepărtaţi din corpul ciupercii. Ciuperca nu posedă un aparat de excreţie ca animalele şi, deşi degradează aminoacizii şi proteinele, nu este capabilă să elimine deşeurile. În acest caz, este nevoită să le depoziteze în vacuole. Din punctul de vedere al chimiei organice, acizii respectivi sunt produşi importanţi de bio- şi semisinteză.

În alcaloizii din ergot, acidul lisergic şi, respectiv, acidul izolisergic sunt legaţi amidic cu o catenă peptidică policiclică. Cu excepţia ergometrinei, ceilalţi alcaloizi din ergot au o structură similară a lanţului polipeptidic şi se diferenţiază doar prin natura radicalilor R_1 şi R_2. Ergometrina are o structură deosebită, deoarece acidul lisergic este legat polipeptidic de 2-aminopropanol. Ergotoxina este un amestec de ergocristină, ergocriptină şi ergocornină.

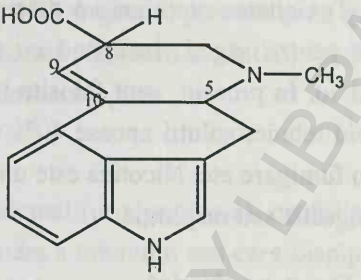
Dacă se priveşte cu atenţie structura chimică a acestor acizi, se constată prezenţa unui radical provenit de la triptofanul proteinei originare, iar ceilalţi atomi din moleculă par a proveni din condensarea unor aminoacizi din aceeaşi proteină. Planta nu a realizat structuri chimice complicate, ci a condensat doar aminoacizii din proteină, prin eliminarea de molecule de apă. Un argument în acest sens îl constituie şi reacţia acestor alcaloizi cu reactivii specifici triptofanului.

Ergotul mai conţine aminoacizi, amine, pigmenţi, steroli, lipide, săruri minerale etc., dovedind astfel că formarea alcaloizilor nu este o reacţie specifică, ci una care conduce la foarte mulţi compuşi, în proporţii variate.

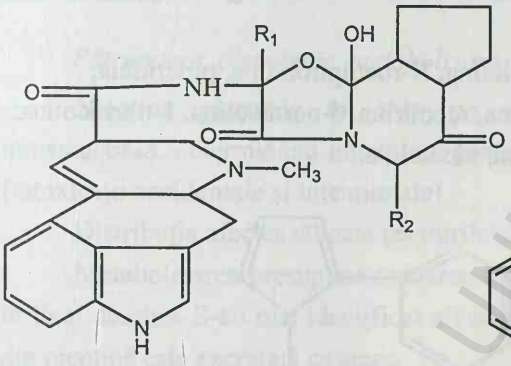
BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

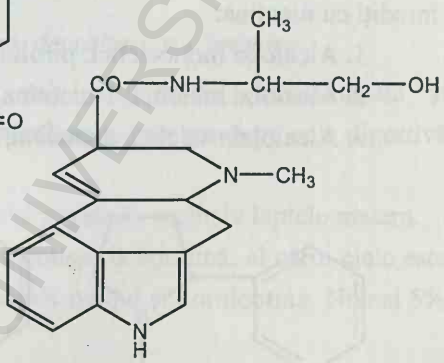


Acid lisergic



Acid izolisergic





Structura alcaloizilor din ergot

Ergotamina	R_1=-CH_3	Ergometrina
Ergozina	=-CH_3	R_2=-CH_2-C_6H_5
Ergocristina	=-$CH(CH_3)_2$	-CH_2-$CH(CH_3)_2$
Ergocriptina	=-$CH(CH_3)_2$	-CH_2-C_6H_5
Ergocornina	=-$CH(CH_3)_2$	-CH_2-$CH(CH_3)_2$
		-$CH(CH_3)_2$

Nicotina

Tutunul a fost adus din America în Spania şi Portugalia la începutul secolului al XVI-lea şi, de aici, în Franţa de către ambasadorul Jean Nicot (1558). În frunzele acestei specii din familia Solanacee, se găsesc mai mulţi alcaloizi, dintre care, nicotina reprezintă 0,5-8% şi 97% din totalul lor.

Nicotina se găseşte în cantităţi mici în multe alte plante. Ea a fost izolată din tutun în 1828 de către Posselt şi Reimann, formula fiind stabilită în 1893 de către Pinner, iar sinteza realizată în 1904 (Pictet şi Rotsky).

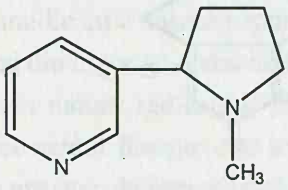
BCU "I. CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Toxicitatea nicotinei i-a determinat pe indienii americani s-o utilizeze ca otravă pentru săgeți. Începând cu secolul al XVII-lea, a fost utilizată și ca insecticid. În prezent, sunt folosite în același scop soluțiile concentrate cu 95% alcaloid tehnic, soluții apoase 40% sulfat de nicotină, pulberi de prăfuit, hârtii pentru fumigare etc. Nicotina este un insecticid de contact, dar care acționează și prin ingestie sau respirație.

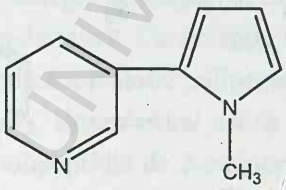
Structura chimică

Nicotina este β-piridil-N-metilpirolidină. În tutun se găsesc și alți alcaloizi înrudiți cu nicotina:

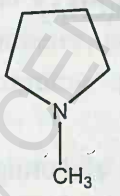
1. Alcaloizi monociclici: pirolidina, N-metilpirolidina, piperidina;
2. Alcaloizi biciclici: l-nicotina, nicotirina, d-nornicotina, l-nornicotina;
3. Alcaloizi triciclici: anatalina, nicotelina.



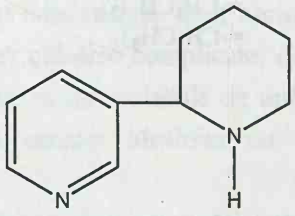
Nicotina



Nicotirina



N-metil-pirolidina



Anabazina

Proprietăți fizico-chimice

Nicotina este un lichid uleios, slab gălbui, cu miros de tutun și gust arzător. Este o bază tare, datorită prezenței celor două grupări aminice. Se

BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

dizolvă uşor în apă şi în majoritatea solvenţilor organici, precum şi în grăsimi. Atomii de carbon asimetric permit existenţa izomerilor optici, însă toate formele *levo* şi *dextro* au aceeaşi activitate farmacologică.

Etiologia intoxicaţiilor

Intoxicaţia acută poate avea loc accidental (prin confuzie), profesional, la muncitorii care participă la operţiuni de tratare a tutunului sau care manipulează insecticide, şi intenţional (crime, sinucideri). Intoxicaţia cronică se produce prin abuz de fumat.

Pătrundere, distribuţie, metabolizare, depozitare şi eliminare

Nicotina pătrunde în corp pe cale respiratorie, transcutanată şi transmucoasă, determinând intoxicaţii profesionale, precum şi pe cale digestivă (intoxicaţii accidentale şi intenţionale).

Distribuţia afectează toate ţesuturile şi organele, inclusiv laptele matern.

Metabolizarea presupune oxidarea nicotinei la conitină, al cărui ciclu este în final deschis. S-au mai identificat nicotin-N-oxidul şi nornicotina. Numai 5% din nicotină este excretată ca atare.

Nicotininei şi N-oxizilor derivaţilor de nicotină li se atribuie însuşiri cancerigene.

Eliminarea are loc renal (acidifierea urinei favorizează eliminarea), pulmonar şi salivar.

Proprietăţi toxicologice. Mecanismul de acţiune

Nicotina, într-o primă fază, produce excitare, urmată de o a doua fază, de inhibare, manifestată la nivelul diferitelor sisteme, dar electiv asupra sistemului nervos.

Sistemul nervos: în doze reduse, SNC este excitat ceea ce determină euforia, excitaţia psihică, reducerea senzaţiei de foame şi oboseală. În doze ridicate, nicotina acţionează asupra ganglionilor terminali, parasimpatici şi simpatici: iniţial excită trecător fibrele parasimpatice, apoi fibrele simpatice, ulterior, le paralizează prin efect direct asupra celulelor ganglionare. Inhibiţia la nivelul SNC se manifestă în special asupra centrului respirator. Moartea poate

interveni însă înaintea inhibiţiei centrului respirator, prin curarizarea muşchilor toracici.

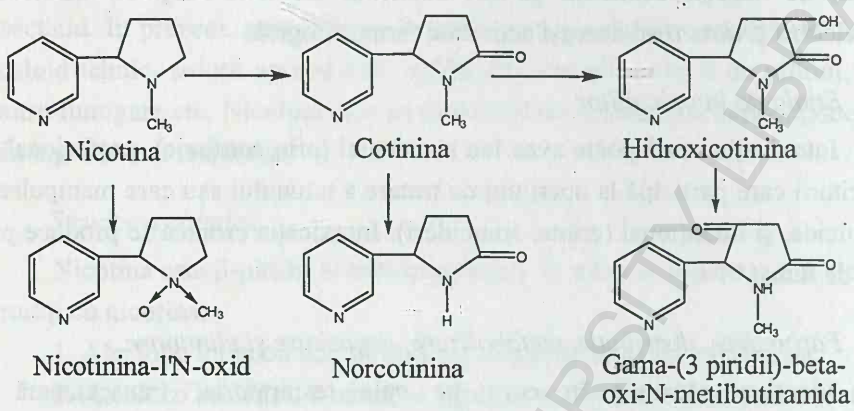


Figura 5. Metabolizarea nicotinei

Sistemul cardiovascular: nicotina influenţează ritmul cardiac şi presiunea sanguină. Iniţial se observă bradicardie prin stimularea vagului. În doze mai mari apare brahicardie prin stimularea ganglionilor cardiaci simpatici. Hipertensiunea se datorează vasoconstricţiei periferice şi descărcării adrenalinei din medulosuprarenală. În stadiul de paralizie se remarcă hipotensiunea.

Muşchii striaţi: în doze mici cronaxia muşchilor scade, pe când cronaxia nervilor rămâne nemodificată rezultând convulsii. În doze ridicate cronaxia muşchilor creşte cu paralizie (efect curarizant).

Tubul digestiv: în prima fază, muşchii intestinali şi secreţiile sunt stimulate (contracţii, hipersecreţie), apoi inhibate (scăderea tonusului, hiposecreţie).

Nicotina este acetilcolinomimetică. Aceasta nu inhibă nici formarea acetilcolinei, nici eliberarea acesteia la nivelul ganglionilor sub acţiunea impulsurilor nervoase, ci stimulează prin depolarizarea celulei ganglionare, apoi blochează transmisia ganglionară prin competiţie cu acetilcolina.

Nicotina prezintă o înaltă toxicitate. DL_{50} per os este numai 40-60 mg nicotină sau câteva granule de tutun (o ţigară conţine 20-30 mg nicotină). Variabilitatea toxicităţii este ridicată, în funcţie de obişnuinţă, de la 4 mg nicotină la cei neobişnuiţi cu nicotina până la 4 g nicotină într-o soluţie de insecticid. Concentraţia maximă tolerabilă în atmosferă este de 0,5 mg/m^3. În

experiment DL_{50} *per os* este de 50-60 mg/kg la şobolan, 1 mg/kg la câine, 10 mg/kg la alte vertebrate, în timp ce albinele nu sunt afectate de nicotină.

Simptomatologie. Forma uşoară de intoxicaţie cu nicotină se manifestă prin paloare, ameţeli, cefalee, mers ebrios, sialoree, tremurături ale mâinilor.

În formă acută apar: paloare, transpiraţii reci, cefalee, tulburări vizuale şi auditive, stare depresivă, anxietate, vărsături, tahicardie, hipotensiune. După o stare de somnolenţă cu respiraţie superficială, fenomenele pot ceda. Timp de câteva zile se menţine o stare astenică cu dezgust pentru tutun.

Forma supraacută se caracterizează prin arsuri bucofaringiene şi epigastrice, vărsături, colici abdominale intense, transpiraţii reci, diaree, urmate de obnubilare, dispnee, prăbuşire tensională şi moarte prin colaps sau insuficienţă respiratorie acută (paralizia muşchilor respiratori).

Tratament:

- Spălătură gastrică cu suspensie de cărbune activat sau administrare *per os* de apă sau suspensie de cărbune activat urmată de vărsături şi purgativ salin;
- Decontaminarea tegumentelor prin spălare cu apă şi săpun (în caz de stropire cu toxic);
- Tratamentul simptomatic constă în combaterea insuficienţei respiratorii şi circulatorii acute, a convulsiilor şi a durerilor.

Intoxicaţia cronică. Tabagismul este, împreună cu alcoolismul, toxicomania cea mai răspândită şi se datorează prezenţei în fumul de tutun a alcaloizilor nicotinici, a oxidului de carbon, a substanţelor cancerigene şi iritante.

Datorită volatilităţii lor, alcaloizii nicotinici trec în fum în proporţie de 30-40 % din concentraţia lor totală în tutun. Din cele 3 - 4 mg nicotină care pătrund în corp la fumatul unei ţigări 90% se absoarbe la nivelul plămânului. Oxidul de carbon (4% în fumul de ţigară) se găseşte în proporţie de 1 - 2 ml CO/100 ml sânge, în raport cu numărul de ţigări fumate, calitatea tutunului, a foiţei, modul de a fuma etc. Substanţele cancerigene sunt reprezentate de unele hidrocarburi policiclice aromatice, iar cele cocancerigene de fenoli şi crezoli. Ele nu se găsesc în plantă, ci doar în fumul de ţigară. Substanţele iritante sunt acroleina şi oxizii de azot.

Mortalitatea creşte în general cu 20-80% la fumători în raport cu nefumătorii şi depinde de numărul de ţigări fumate zilnic, vârsta de debut a

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

fumatului, modul de inhalare a fumului etc. Se consideră că fiecare ţigară scurtează viaţa cu 7 minute.

Fumătorii care au atins vârste înaintate au fost întotdeauna moderaţi, fumând încet şi puţin în fiecare zi şi oprindu-se atunci când apărea senzaţia de saturare. De asemenea, aceştia au fost, de regulă, indivizi care au muncit intens fizic, menţinându-şi corpul în mişcare, astfel încât nicotina s-a eliminat mereu (Hanish, 1980).

Fumatul este un obicei dăunător, mai ales că, în prezent, multe femei fumează. De remarcat faptul că aceste femei sunt în general carnivore. Cele care ar dori să renunţe la fumat nu reuşesc deoarece acesta le detensionează după consumul de carne. Un alt simptom este acela că aceste femei îmbătrânesc mai rapid.

Fumatul afectează în special arborele respirator şi sistemul cardiovascular. Tractul gastrointestinal este, de asemenea, afectat la fumători. Ulcerul gastrointestinal prezintă o frecvenţă dublă, cu o mortalitate de 3-4 ori mai mare la fumători faţă de nefumători.

Afecţiunea oculară specifică fumătorilor este „ambliopia tabagică" datorată spasmului vaselor retiniene şi exprimată prin scăderea acuităţii vizuale, îndeosebi în centrul câmpului vizual şi pentru obiectele colorate. În cazurile grave, se poate produce atrofierea nervului optic. Dintre tulburările neuropsihice comune multor fumători sunt cefaleea, iritabilitatea, insomnia, astenia, micşorarea reflexelor.

Stricnina

După ingerarea stricninei în doză toxică se simte imediat gustul amar, după care apare anxietatea, contractura muşchilor feţei şi ai gâtului, uşoare tresăriri musculare spontane. Toate aceste simptome, preced declanşarea crizei convulsive, asemănătoare crizei tetanice şi anume:

- Contractarea cu rigiditate a tuturor muşchilor, maxilarele sunt încleştate, iar contracţia muşchilor feţei provoacă „râsul sardonic";
- Exoftalmie şi midriază, uneori cu discromatopsie în verde, hipersalivaţie şi transpiraţie;
- Oprirea respiraţiei şi cianoză din cauza contracţiei muşchilor respiratori.

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Starea de conştienţă este păstrată: intoxicatul suferă intens şi îşi dă seama de pericol. Accesele durează câteva secunde până la un minut, după care muşchii se relaxează; în cazul convulsiei prelungite, intoxicatul poate rămâne inconştient datorită apneei şi anoxiei. După 10-15 minute urmează, de regulă, al doilea acces. Orice excitaţie (mecanică sau senzitivă) poate declanşa accesele convulsive. Moartea survine după primul acces sau după următoarele 2-5, prin paralizie bulbară, datorită stimulării excesive şi anoxiei determinată de apnee. Dacă accesele se răresc (manifestările toxice durează în total 8-10 ore), vindecarea urmează rapid, persistând câteva zile astenia şi durerile musculare.

La doze subtoxice nu apar fenomene nocive, iar intoxicaţia cronică nu a fost descrisă.

Tratamentul constă în curarizare, intubaţia traheală şi ventilaţie mecanică, după care se recurge la:

- Spălătură gastrică cu suspensie de cărbune activat şi purgativ salin pe sondă nazogastrică;
- Combaterea convulsiilor cu diazepam intravenos, fenobarbital intramuscular sau barbiturice cu durată scurtă de acţiune;
- Diureză osmotică forţată;
- Tratament simptomatic.

Curara

Curara şi substanţele curarizante sunt paralizante ale transmisiei neuromusculare, fiind capabile să acţioneze la nivelul plăcii motorii. În mod obişnuit, atunci când un impuls nervos trece prin fibra colinergică, se eliberează acetilcolină la nivelul plăcii motorii, producându-se depolarizarea acesteia. Creşte astfel permeabilitatea pentru Na^+ şi K^+. Când depolarizarea este destul de intensă pentru a excita fibra musculară din vecinatate, are loc contracţia musculară. Depolarizarea este de scurtă durată (miimi de secundă), deoarece acetilcolina este rapid hidrolizată, iar legătura neuromusculară devine liberă pentru a transmite un nou impuls. Transmisia poate fi impiedicată prin lipsă de acetilcolină (inhibarea sintezei sau deplasarea acesteia de pe placă), prezenţa unui exces de acetilcolină sau adaos de acetilcolinomimetice, când placa se depolarizează prelungit, cu impiedicarea trecerii unui nou impuls.

Substanţele care impiedică transmisia neuromusculară acţionează prin:

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

- *inhibarea sintezei acetilcolinei.* Toxinele botulinice şi tetanice intervin asupra enzimelor participante la sinteză;

- *deplasarea acetilcolinei prin competiţie.* Curara şi unele curarizante de sinteză intră în competiţie cu acetilcolina pentru receptorii care se fixează pe placa motorie, împiedicând acţiunea depolarizantă a mediatorului în cursul procesului de conducere normal. Ele paralizează muşchiul prin creşterea rezisteţei lui la depolarizare. Muşchiul nu mai este excitat prin intermediul nervului, dar poate fi excitat direct sau prin aplicare de Na^+ sau K^+.

Anticolinesterazicele care cresc cantitatea locală de acetilcolină (fiziostigmina, neostigmina) permit acetilcolinei să înlăture competiţia, ocupând din nou receptorii celulari.

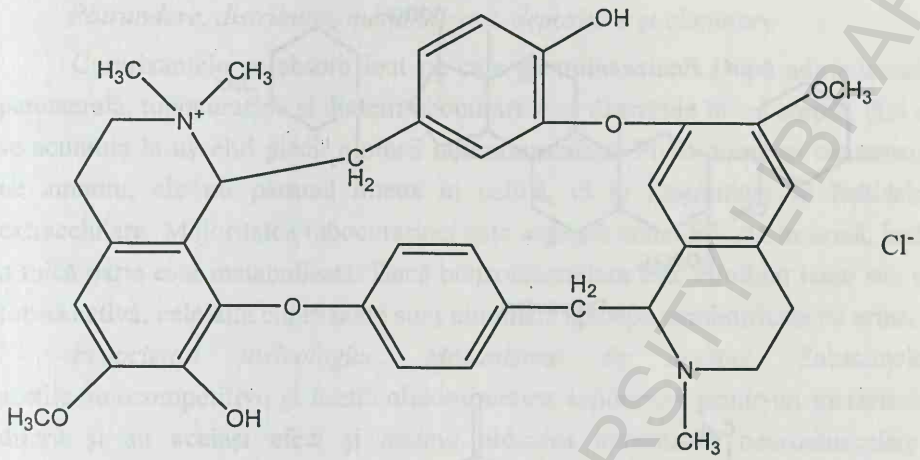
- *depolarizarea muşchiului.* Unele curarizante de sinteză acţionează ca şi cum un exces de acetilcolină ar inunda placa motorie, astfel încât zonele muşchiului din vecinătatea plăcii motorie se depolarizează şi declanşarea undei de contracţie este împiedicată. Aceste substanţe se adaugă la acetilcolina fiziologică şi, acţionând în acelaşi sens, determină depolarizarea care depăşeşte placa motorie şi atinge muşchiul, întrerupând transmisia neuromusculară.

Curarizante acetilcolinocompetitive: d-Tubocurarina (clorura este numită tubarină) conţine două inele tetrahidro-izochinolinice, în care un atom de azot este cuaternar, iar celălalt aminic terţiar. Izomerul *dextro* este de câteva zeci de ori mai activ decât forma „levo".

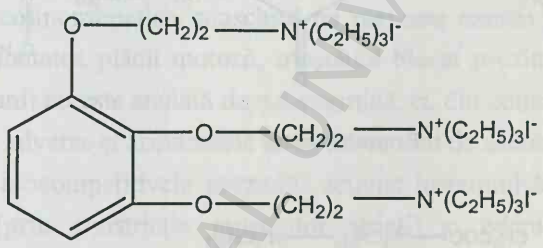
- *Dimetiltubocurarina* (iodura este numită metubină) conţine în plus trei grupări metil, dintre care unul cuaternizează celălalt atom de azot, iar ceilalţi doi formează eteri metilici cu grupările OH fenolice. Este de 2-3 ori mai activă decât d-tubocurarina.

- *Galamina* (Flaxedil, Tricuran, Remiolen) este de aproximativ 5 ori mai puţin activă decâtd-tubocurarina.

- *Benzochinonium* (clorura: Miloton) este de 5 ori mai activă decât d-tobocurarina.



Tobocurarina



Galamina

- *Pancuronium*(bromuraeste numită pavulon) este un derivat cu structură steroidică, pe care sunt grefate grupări de amoniu cuaternare.

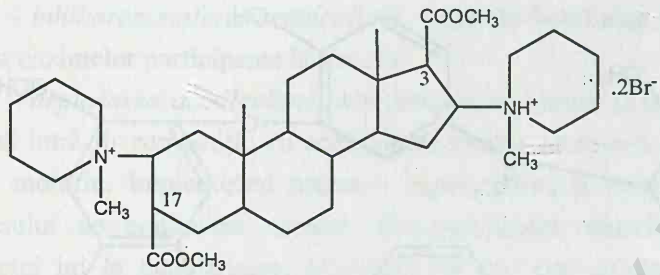
Curarizante acetilcolimimetice (depolarizante):

- *Decametonium* (bromura: Syncurin) este de 4 ori mai activ decât d-tubocuranina, dar prezintă o durată mai scurtă de acţiune:

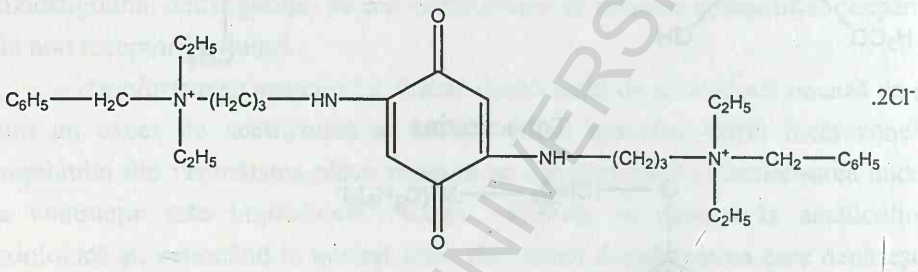
$(CH_3)_3N^+—(CH_2)_{10}—N^+(CH_3)_3 \cdot 2Br^-$

- *Succinilcolina* (Suxametoniu; clorura: Anectin; bromura: Myorelaxin) reprezint[un curarizant des folosit.

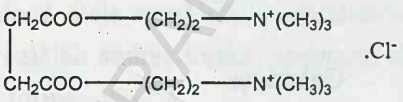
BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY



Pancuronium



Benzochinonium



Succinilcolina

Proprietăţi fizico-chimice

D-tubocurarina, dimetiltubocurarina, decametonium şi succinilcolina sunt substanţe albe, cristaline, cu gust amar, galamina este albă, amorfă, higroscopică, iar benzochinonium are culoarea roşie, proprie structurii chinoide.

În general, sărurile acestor substanţe curarizante sunt solubile în apă şi în etanol şi greu solubile sau insolubile în eter şi cloroform.

Etiologia intoxicaţiilor

Intoxicaţiile acute au loc la administrare parenterală, prin supradozare terapeutică sau prin utilizarea în cazuri contraindicate. Prin ingerare, intoxicaţiile se produc numai la doze ridicate, deoarece absorbţia digestivă este scăzută.

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Pătrundere, distributie, metabolizare, depozitare şi eliminare

Curarizantele se absorb lent pe cale gastrointestinală.După administrare parenterală, tubocurarina şi dimetiltubocurarina se distribuie în tot corpul, fără a se acumula la nivelul plăcii motorii neuromusculare. Fiind compuşi cuaternari de amoniu, ele nu pătrund intens în celulă, ci se răspândesc în lichidele extracelulare. Majoritatea tubocurarinei este regăsită nemodificată în urină, însă o mică parte este metabolizată. Dacă benzochinonium este eliminat renal sub o formă activă, celelalte curarizante sunt eliminate aproape nemodificate cu urina.

Proprietaţi toxicologice. Mecanismul de acţiune. Substanţele acetilcolinocompetitive şi acetilcolinomimetice acţionează printr-un mecanism diferit şi au acelaşi efect şi anume blocarea transmisiei neuromusculare, transmisia nervoasă şi cantitatea de acetilcolină eliberată la terminaţiile nervoase fiind, în ambele cazuri, normale.

La acetilcolinomimetice, muşchiul nu mai este excitat pe cale directă în zonele din vecinătatea plăcii motorii, muşchiul blocat prezintă fasciculaţii, iar blocarea joncţiunii nu este anulată de neostigmină, ci, din contra, prelungită.

Reacţiile adverse şi accidentele terapeutice sunt de asemenea diferite.

Acetilcolinocompetitivele prezintă: acţiune histaminică manifestată prin bronhospasm (prin constricţia muşchilor striaţi) şi edem pulmonar (prin hipermeabilitate vasculară); blocaj ganglioplegic, evidenţiat prin tahicardie şi hipertensiune, deoarece prin competiţie cuacetilcolina se întrerupe transmisia influxului nervos la ganglionii autonomi. Ambele efecte sunt mai slabe la galamină şi aproape nule la pancuronium. La acetilcolinomimetice paralizia este precedată de fibrilaţie musculară şi contracţii, ceea ce denotă stimularea muşchiului înainte de paralizie.

Succinilcolina, deşi are o durată scurtă de acţiune, produce unele cazuri de depresiune respiratorie, fenomen persistent după refacerea transmisiei neuromusculare; fenomenul este atribuit unei particularităţi a mecanismului de acţiune, care este iniţial depolarizant, iar ulterior competitiv. Acest efect ar avea loc în special la nivelul muşchilor respiratori şi s-ar datora modificării moleculelor proteice ale plăcii motorii, care devin capabile să răspundă la succinilcolină asemănător curarei.

Curarizantele au efecte terapeutice diverse: în terapia anticonvulsivantă, în aplicarea fizioterapiei la sechele de poliomelită, în psihiatrie la electroşocuri

(pentru prevenirea riscului de fracturi), în chirurgie ca adjuvant în anestezie (pentru producerea relaxării necesare unor intervenţii).

Doza minimă letală a curarizantelor este de aproximativ 50 mg parenteral. Totuşi, limita de siguranţă este îngustă; de pildă,o doză de 10 mg pancuronuim intravenos, a provocat decese. În tabelul următor sunt dozele letale la animal.

Tabelul 4. Dozele medii letale, DL_{50}, ale unor curarizante uzuale (după Clarke, 1971)

Compusul	Modul de administrare	DL_{50} mg/kg
Tubocurarina	s.c. iepure	1,25
Tubocurarina	i.v. iepure	0,25
Galamina	s.c. iepure	15
Galamina	i.v. iepure	5,5
Decametonium	oral şoarece	125

Simptomatologie

- Efect curarizant: la început tonusul muscular este scăzut, după care apare paralizia muşchilor, în ordinea următoare: muşchi mici, muşchii membrelor şi trunchiului, muşchii intercostali şi diafragmici. Se observă pareza pleoapelor, imposibilitatea deglutiţiei, relaxarea muşchilor cervical cu căderea capului, tulburări respiratorii, asfixie şi moarte.

- Acţiune directă asupra centrilor respiratori bulbari care contribuie la scăderea mişcărilor respiratorii.

- Eliberare de histamină şi acţiune ganglioplegică, care determină urticarie, bronhospasm, edem pulmonar, scăderea tensiunii până la colaps cardiovascular.

Tratament

- Tratament antidotic: pentru acetilcolino-competitive se administrează neostigmina, care permite acumularea de acetilcolină şi deci îndepărtează inhibiţia; pentru acetilcolinomimetice nu există antidot;

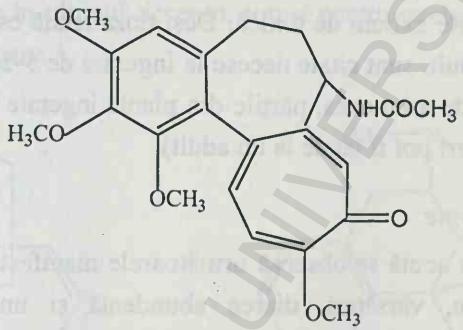
- Tratament simptomatic: ventilaţie asistată, oxigenoterapie, combaterea bronhospasmului şi a acţiunii parasimpatomimetice.

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Colchicina

Colchicina este principalul alcaloid din bulbul, florile, seminţele de *colchicum autumnale* (brânduşa de toamnă), o plantă din familia Liliacee. Planta, originară din Asia Mică, este cunoscută încă din secolul al VI-lea î.e.n. când a fost recomandată de Alexandru din Trales împotriva durerilor articulare.

Structura chimică. Colchicina este constituită dintr-un nucleu benzenic cu trei grupări metoxi, un nucleu heptoatomic cu o grupare aminică acetilată şi un nucleu tropolinic (3,5,7-cicloheptatrien, 1-ol, 2-onă) în care gruparea hidroxil este metilată.



Proprietăţi fizico-chimice. Colchicina este o pulbere gălbuie, cu gust amar, solubilă în apă, alcool, cloroform, greu solubilă în eter de petrol.

Etiologia intoxicaţiilor

Intoxicaţiile acute sunt terapeutice (supradoze, tratament prelungit, hipersensibilitate) sau accidentale (ingerare de părţi de plantă, tentative de sinucidere sau de crimă).

Pătrundere, distribuţie, metabolizare, depozitare şi eliminare

Colchicina se absoarbe la nivelul tractului intestinal şi de la locul injectării.

Colchicina este metabolizată prin hidrolizarea legăturilor amidice. O parte din alcaloid este excretată nemodificat. În urină se regăsesc şi unii metaboliţi neidentificaţi. Eliminarea se face lent, pe cale intestinală şi renală, existând pericolul de acumulare. Dacă rinichiul este lezat (frecvent la gutoşi) colchicina şi metaboliţii toxici se acumulează în organism după un tratament îndelungat.

Proprietăţi toxicologice. Mecanismul de acţiune. Colchicina este administrată ca antiinflamator în procesele de gută. Nu se cunoaşte cu precizie mecanismul ameliorării sensibile în urma acestui tratament. Colchicina nu este un analgezic şi nu influenţează alte tipuri de algii şi inflamaţii; de asemenea, nu are acţiune asupra excreţiei acidului uric sau a uricemici. Un acces de gută apare ca o reacţie inflamatorie la cristalele de uraţi depozitate la nivelul articulaţiilor şi provenite din lichidele organismului încărcate cu uraţi, depozitarea fiind favorizată de pH-ul acid. Colchicina, probabil, întrerupe cercurile vicioase care antrenează reacţia inflamatorie de la baza accesului de gută, prin inhibarea migraţiei leucocitare, a fagocitozei microcristalelor de acid uric şi a producerii de acid lactic leucocitar.

Colchicina este extrem de toxică. Deşi doza letală este considerată 20-50 mg sau chiar mai mult, sunt citate decese la ingerare de 5-20 mg şi supravieţuiri la doze de 50 mg; de asemenea, părţile din plantă ingerate au condus ocazional la decese (câteva flori pot fi fatale la un adult).

Simptomatologie

În intoxicaţia acută se observă următoarele manifestări: digestive (dureri abdominale intense, vărsături, diaree abundentă şi uneori, sanguinolentă, contracturi abdominale), cardiovasculare (căderea tensiunii, hipotermie), respiratorii (polipnee, opresiune toracică, în cazuri grave stop respirator), nervoase (cefalee, ameţeli, anxietate, crampe musculare), renale (anurie), hematologice (manifestate atât la periferie, cât şi la nivelul măduvei, prin afectarea seriei leucocitare şi trombocitare, cu complicaţii infecţioase grave). Moartea survine prin colaps circulator sau paralizie respiratorie.

Tratament:

- spălătură gastrică cu suspensie de cărbune activat, apoi purgativ salin;
- diureză forţată (hemodializă şi dializă peritoneală nu sunt eficiente);
- tratament simptomatic (combaterea şocului, a insuficienţei respiratorii, terapia aplaziei medulare, a insuficienţei renale, a complicaţiilor infecţioase).

Morfina, codeina, tebaina şi derivaţii de semisinteză şi sinteză

Morfina, principalul alcaloid din opiu, a fost obţinută în stare brută încă din secolul XVII-lea. Izolarea sa în stare cristalizată s-a realizat în 1803 de către Serturner. Acesta a denumit-o morfină, în 1817, după numele zeului somnului şi

BCU IAŞI / CENTRUL UNIVERSITAR

al nopţii, Morfeu. După izolarea codeinei în 1832 şi a tebainei în 1836, s-a trecut la cercetări care au fost încheiate în 1956, când o dată cu obţinerea morfinei prin sinteză totală (Gastes-Tschudi) s-a confirmat formula admisă astăzi şi propusă încă din 1925 (Robinson-Guilard). Toxicomania la care conduce morfina, prima dintre *drogurile albe*, a fost, iniţial, de origine terapeutică.

Heroina sintetizată în 1874 de Wright, a fost folosită ca remediu împotriva afecţiunilor respiratorii. Numele de heroină („remediu puternic") l-a primit în 1898 (Dresser) dar, deja în 1902, Jarnice citează cazuri de heroinomanie, astfel încât întrebuinţarea medicală a început să descrească. Deşi abuzul de heroină nu pare a fi în creştere în ultimul deceniu, totuşi pentru unele ţări, el reprezintă o problemă îngrijorătoare.

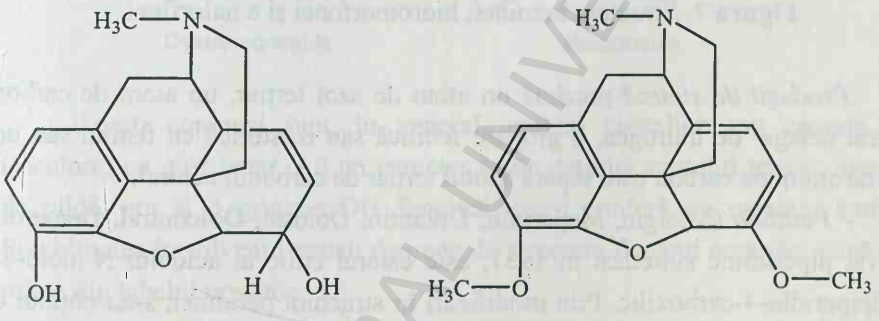


Figura 6. Structura morfinei şi a tebainei

Structura chimică

- *Morfina* este 7,8-dehidro, 4,5-epoxi, 3,6 dihidroxi, N-metilmorfinan; conţine un atom de azot tertiar, o punte oxidică, o grupare -OH secundară la C6 şi un hidroxil fenolic la C3;
- *Codeina* este eterul metilic (la hidroxilul fenolic) al morfinei;
- *Tebaina* are ambii hidroxili metilaţi şi o dublă legătură suplimentară.

Produşii de semisinteză se obţin plecând de la morfină sau alţi alcaloizi din opiu:

- *Dionina, este eterul* etilic la C_3 al morfinei;
- *Heroina*, diacetilmorfina;

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

- *Hidromorfona*, izomer al morfinei, cu o grupare cetonică în C_6 şi saturarea respectivului nucleu;
- *Hidrocodona*, izomer al codeinei, cu structură hidromorfinei;
- *Nalorfina sau N-alil-normorfina.*

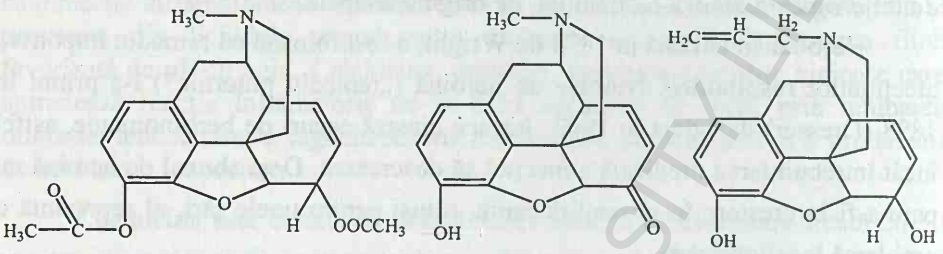


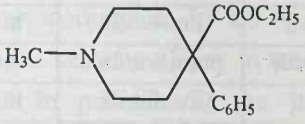
Figura 7. Structura heroinei, hidromorfonei şi a nalorfinei.

Produşii de sinteză prezintă un atom de azot terţiar, un atom de carbon central nelegat de hidrogen, o grupare fenilică sau izosterică cu fenilul sau un lanţ de atomi de carbon care separă azotul terţiar de carbonul central.

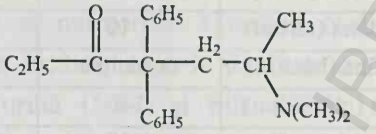
- *Petidina* (Mialgin, Meperidin, Dolantin, Dolosal, Dolcontral, Demerol) derivat piperidinic sintetizat în 1937, este esterul etilic al acidului N-metil-4-fenilpiperidin-4-carboxilic. Prin modificări în structura petidinei, s-au obţinut o serie de produşi piperidinici cu activitatea analgezică puternică, dar cu reacţii adverse nocive;
- *Metadona* (Sintalgon, Mecodin, Phenadon, Depriodol, Dolophine) este 6-dimetilamino 4,4-difenil,3-heptanonă;
- *Dextromoramida* (Palfium, Pirolamidol) sintetizată în 1956, este difenil 2,2'-metil-3-morfotino-4-butiril-pirolidina;
- *Pentazocina* (Talwin, Fortral) este un derivat de benzomorfan:

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

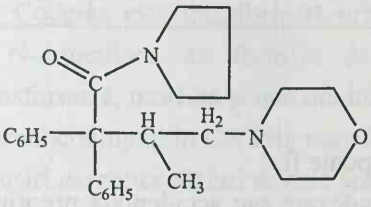
Proprietăţile fizico-chimice



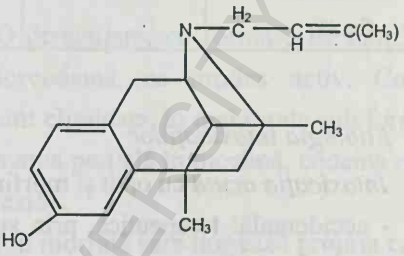
Petidina



Metadona



Dextromoramida



Pentazocina

Aceşti compuşi sunt, în general, pulberi cristaline sau cristale albe (incolore) cu gust amar. Au un caracter bazic datorită azotului terţiar; morfina, de pildă, are şi o grupare OH fenolică care-i conferă un caracter amfoter. Solubilitatea în solvenţii uzuali depinde de structura fiecărui narcotic, după cum reiese din tabelul următor.

Tabelul. Solubilitatea unor narcotice în solvenţi uzuali (după Clarke, 1977)

Compusul	Apă	Etanol	Eter	Cloroform
Morfina(bază)	1/5000 (1/400 apă fierbinte)	1/250	aproape insolubilă	1/1500
Morfina (clorhidrat)	1/25	1/100	insolubilă	insolubilă
Morfina (sulfat)	1/20	1/1000	insolubilă	insolubilă
Codeina (baza)	1/120 (1/20 apa fierbinte)	1/2	1/50	1/2
Codeina (clorhidrat)	1/30	1/100	necunoscută	1/800
Codeina (sulfat)	1/30	1/1300	insolubilă	insolubilă
Heroina (bază)	1-1700	1-30	1-100	1-2
Hidromorfona (clorhidrat)	1-3	1-100	aproape insolubilă	aproape insolubilă

Compusul	Apă	Etanol	Eter	Cloroform
Hidrocodona (bază)	insolubilă	solubilă	necunoscută	necunoscută
Hidrocodona (tartrat)	1-10	1-150	insolubilă	insolubilă
Nalorfina (bază)	insolubilă	solubilă	puţin solubilă	insolubilă
Nalorfina (clorhidrat)	1-8	1-35	insolubilă	insolubilă
Metadona (bază)	1-12	1-7	insolubila	1-3
Dextromoramida (bază)	insolubilă	1-50	puţin solubilă	1-3

Etiologia intoxicaţiilor

Intoxicaţia acută cu opiu şi morfină poate fi:

- accidentală: terapeutică, prin supradozare sau accidentală propriu-zisă, prin confuzie de medicamente sau ingerare de catre copiii mici care sunt deosebit de sensibili la opiacee; pot surveni intoxicatii acute şi la toxicomani prin autoadministrare, din eroare, a unei supradoze.
- voluntară: tentativă de sinucidere, cazuri destul de rare.

Intoxicatia cronică (toxicomania la opiu, morfină, heroină etc.) este un fenomen nedorit. Toxicomania (adicţia) este starea de intoxicaţie periodică sau cronică determinată de consumarea repetată a unui drog natural sau sintetic. Caracteristicile sale sunt: dorinţa de neînvins sau necesitatea de a consuma drogul şi de a-l procura prin orice mijloace, tendinţa de a mări progresiv dozele, dependenţa de ordin psihic şi, în general, dependenţa fizică faţă de efectele drogului, cu apariţia sindromului de abstinenţă la suprimarea lui, efecte nocive asupra individului şi societăţii.

Pătrundere, distribuţie, metabolizare, depozitare şi eliminare

Analgezicele narcotice pot pătrunde în organism pe cale respiratorie (fumat, prizat), pe cale gastrointestinală (ingerat, mestecat, supozitoare), parenterală (subcutanat, intramuscular, intravenos). În general, absorbţia este rapidă din ţesutul subcutanat şi relativ lentă din tractul gastrointestinal. Din circulaţie trec repede în ţesuturile parenchimoase (rinichi, ficat, plămîni, splină) şi în muşchii scheletici. În sistemul nervos, nu se concentrează mari cantităţi de narcotice. Heroina străbate mai uşor bariera hematoencefalică, fiind mai liposolubilă. Analgezicele narcotice trec prin bariera fetoplacentară.

Metabolismul major al morfinei este glucuronoconjugatul în C6. Alţi metaboliţi sunt: glucuronoconjugatul în C3, sulfoconjugatul în C6, diglucuronoconjugatul în C3 şi C6 şi normorfina (morfina N-dimetilată). Morfina nu se acumulează în ţesuturi, încât aproape în totalitate morfina este eliminată în primele 72 ore prin urină (50%) şi bilă (30%). Circulaţia enterohepatică, ca şi secretarea din hepatocit în sânge a glucuronidelor, explică prezenţa lor în plasmă şi ser.

Codeina este transformată prin O-demetilare, cu formare de morfină şi prin N-dimetilare, cu formare de norcodeină, ca produs activ. Codeina netransformată, morfina şi norcodeina sunt eliminate, în majoritate sub formă de glucuronoconjugaţi în C6. Prin transformarea parţială în morfină, codeina capătă şi însuşiri narcotice alături de cele analgezice.

Dionina suferă dezetilare, trecând în morfină care urmează propria cale de biotransformare. Heroina trece, rapid, sub acţiunea esterazei sanguine, în 6-monoacetilmorfină, apoi lent în ficat în morfină şi mici cantităţi de normorfină. Toţi metaboliţii, ca şi heroina liberă sunt eliminaţi sub formă conjugată. Atât heroina, cât şi 6-monoacetilmorfina au slabă afinitate pentru receptorii morfinici din ţesutul cerebral, astfel încât se presupune că morfina este responsabilă de majoritatea activităţii narcotice a heroinei.

Hidromorfona se elimină în cea mai mare parte sub formă de glucuronoconjugaţi, alături de hidromorfona liberă, şi hidromorfolul liber şi conjugat. Hidrocodona prezintă o cale metabolică asemănătoare. Nalorfina se excretă, în majoritate sub formă conjugată.

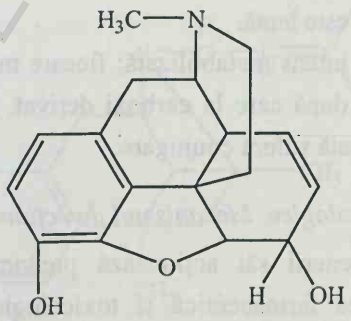
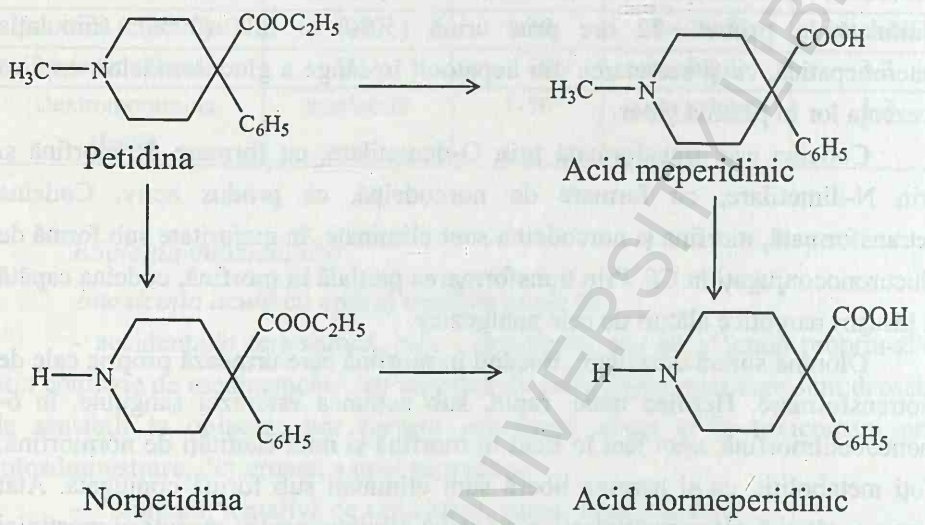


Figura 8. Structura hidromorfolului

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Petidina este dezetilată, când trece în acid meperidinic şi N-demetilată, fiind transformată în norpetidină, care suferă dezetilare cu formare de acid normeperidinic. Ambii acizi se elimină ca glucuronoconjugaţi:



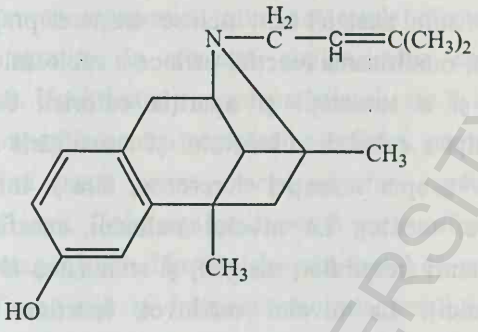
Metadona este mono- şi di-N-demetilată cu ciclizare spontană şi cu formare de 2-etiliden-1,5 dimetil, 3,3-difenilpirolidină (EDDP) şi respectiv 2-etil, 5-metil, 3,3-difenil pirolidină (EMDP). O parte din metadonă, EDDP şi EMDP suferă hidroxilare în poziţia para a unuia dintre fenili, după care sunt conjugaţi; se formează şi mici cantităţi de metadol şi normetadol. Metadona produce efect sedativ puternic când este administrată treptat, deoarece se acumulează, iar excreţia este lentă.

Pentazocina este intens metabolizată; fiecare metil din lanţul lateral este oxidat: întâi la hidroxi, după care la carboxi derivat, iar în final metaboliţii şi pentazocina netransformată suferă conjugare:

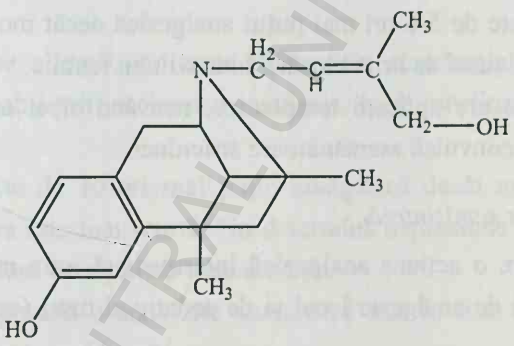
Proprietăţile toxicologice. Mecanismul de acţiune

Morfina şi congenerii săi acţionează predominant asupra sistemului nervos central. Acţiunea farmaceutică şi toxicologică este proporţională cu gradul de dezvoltare al sistemului nervos pe scară filogenetică, conform valorilor DL_{50} (mg/kg corp): 600-800 pentru broască, 700 pentru şoarece, 500

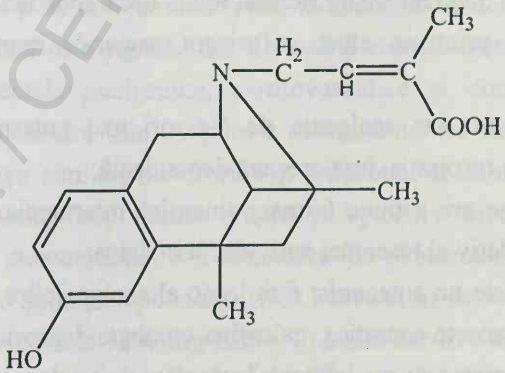
pentru cobai, 210 pentru câine, 1-3 pentru pisică, 0,4 pentru om. La om, tipul şi intensitatea acţiunii depinde de produs, doză şi cale de administrare, psihism, grad de obişnuinţă.



Pentazocina



Cis- şi transhidroxipentazocina



Trans-carboxipentazocina

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Morfina prezintă o acţiune deprimantă în zonele superioare în timp ce zonele inferioare sunt excitate. Astfel la nivelul creierului, se produce deprimare manifestată prin analgie (la doze terapeutice) şi narcoză (la doze superioare). Morfina nu întrerupe transmisia influxului dureros, ci împiedică precepţia cerebrală. În mecanismul analgiei sunt incluse: creşterea pragului de percepere a senzaţiei dureroase; modificarea reacţiei psihice a subiectului faţă de durere, cu dispariţia panicii şi a anxietăţii şi apariţia euforiei; favorizarea instalării somnului, consecinţă a calmării subiectului şi a epuizării sale fizice. Morfina acţionează selectiv asupra senzaţiei dureroase, fără a influenţa alte senzaţii (auditive, olfactive, tactile). La nivelul bulbului, morfina acţionează prin deprimarea unor centri (respirator, tusigen) şi stimularea altora (centrul vomei, la concentraţii mici). La nivelul măduvei, morfina produce stimulare, dependentă mai degrabă de acţiunea sa cerebrală, decât de acţiunea medulară directă.

Codeina este de 5-6 ori mai puţin analgezică decât morfina, dar deprimă mai intens centrul tusei datorită blocării hidroxilului fenolic.

Tebaina nu are aplicaţii terapeutice, neavând efect analgezic. La doze înalte, determină convulsii asemănătoare stricninei.

Derivaţii de semisinteză

Dionina are o acţiune analgezică intermediară între morfină şi codeină. Are şi proprietăţi de analgezic local şi de sedativ al tusei (este însă mai toxică decât codeina).

Heroina are un efect analgezic mai redus decât morfina, însă mai precoce: se caracterizează printr-un efect euforizant, superior morfinei, apreciat de heroinomani.

Hidromorfona este analgezic de 5-6 ori mai puternic decât morfina, deprimă mai puţin respiraţia, însă creează dependenţă.

Hidrocodona are acţiune farmacodinamică intermediară între morfină şi codeină şi este sedativ al tusei mai activ decât codeina.

Nalorfina este un antagonist fiziologic al analgezicilor narcotice. În intoxicaţiile acute cu aceste narcotice, nalorfina combate depresiunea respiratorie şi înlătură starea comatoasă; nu înlătură însă efectele analgezice şi narcotice ale opiaceelor. Totodată, nu este indicată în combaterea depresiunii respiratorii

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

determinată de alte deprimante ale sistemului nervos central (alcool, barbiturice etc.). Nalorfina este ea însăşi un analgezic, dar nu sedativ. La doze ridicate poate induce depresie respiratorie gravă, mioză, scăderea temperaturii corporale; nu este constipantă şi nu conduce la hipertonia musculaturii intestinale. Nalorfina este în acelaşi timp un antagonist (anulează unele efecte ale analgezicelor narcotice) şi un agonist (în absenţa analgezicelor narcotice acţionează asemănător acestora). Unul dintre mecanismele implicate în acţiunea antagonică a nalorfinei este competiţia pentru receptorii morfinici, pentru care are afinitate mai mare. Nalorfina poate cauza reacţii adverse supărătoare şi nu este recomandată ca analgezic. Toleranţa se dezvoltă pentru efectele agonistice, dar nu şi pentru cele antagonistice. Nu este dovedit faptul că provoacă dependenţă fizică de tip morfinic, însă la întreruperea tratamentului cu doze mari de nalorfină apare sindromul de abstinenţă. De asemenea, administrarea nalorfinei poate precipita criza de abstinenţă la dependenţii fizici de morfină şi succedaneele sale.

Derivaţii de sinteză, cu toate diferenţele structurale, prezintă aceeaşi activitate şi, probabil prin aceleaşi mecanisme, ca şi morfina, deosebirile fiind doar cantitative.

Petidina este de 10 ori mai puţin analgezică decât morfina, iar durata acesteia de acţiune este mai scurtă. Nu determină depresiune respiratorie şi are capacitate mai redusă de a genera toxicomanie.

Metadona posedă o activitate analgezică mai intensă decât morfina iar durata de acţiune este mai lungă.

Pentazocina posedă o jumătate până la o treime din activitatea analgezică a morfinei, acţiunea este rapidă, dar de scurtă durată. Totodată, pentazocina antagonizează efectele analgezice, cardiovasculare şi comportamentale ale morfinei şi succedaneelor sale. Acţiunile pentazocinei nu sunt antagonizate de nalorfină şi produşii similari (levolorfan şi naloxonă) ci de metilfenidat. Nu se ştie dacă pentazocina acţionează asupra receptorilor morfinici sau asupra receptori similari stereochimic. S-a considerat că pentazocina are o capacitate redusă de a genera abuz şi dependenţă, însă sunt cazuri de administrare cronică abuzivă în doze de până la 1200 mg zilnic; în multe cazuri a apărut sindromul de abstinenţă. Doza minimă letală, *per os* la adult, este de 100 mg pentru meperidină, hidromorfonă, heroină; 200 mg pentru morfină; 500 mg pentru

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

dionină, dextromoramidă; 800 mg pentru codeină; 1000mg pentru petidină; 2 g pentru extract de opiu. Fenomene toxice grave se pot instala chiar şi la doze de ½ până la ¼ din doza minimă letală. Morfinomanii pot suporta până la 5 g de morfină zilnic şi 2 g morfină intravenos. Hepaticii, subiecţii cu insuficienţă respiratorie şi copiii sunt foarte sensibili la narcotice (de exemplu, cazul unui copil decedat la o doză de 0,5 mg morfină).

Principalele reacţii adverse sunt:

Digestive: sunt comune tuturor reprezentanţilor acestei clase de medicamente şi constau din:

- Greţuri şi vărsături, consecinţă a două cauze: spasmul piloric şi hipertonia muşchilor netezi stomacali care determină evacuarea conţinutului stomacal prin vărsături; stimularea centrului bulbar al vomei, manifestată la doze mici per os (la administrare parenterală se observă dimpotrivă inhibarea centrului vomei datorată acumulării substanţei în sânge);
- Întârzierea tranzitului intestinal ca efect al: diminuării secreţiilor digestive (excitante ale peristaltismului intestinal); hipertonia musculaturii netede a intestinului gros; scăderea refluxului de defecare prin mecanism central nervos;
- Senzaţia de sete, consecinţă a scăderii secreţiei salivare; dacă la morfină s-au adăugat mici cantităţi de atropină (antispastic) senzaţia de sete este intensificată;
- Colici biliare, determinate de creşterea presiunii în canalele biliare, ca urmare a contracţiei sfincterului Oddi.

Succedaneele morfinei induc manifestări digestive similare, prin aceleaşi mecanisme, dar în general mai accentuate. La petidină intervine în plus şi componenta parasimpatolitică, care intensifică unele din acţiunile digestive ca de exemplu senzaţia de sete. Caracteristice pentru petidină sunt şi vărsăturile bruşte, fără greţuri, la care contribuie, în afară de mecanismele comune morfinei, şi scăderea pragului de excitabilitate a aparatului labirintic. Întârzierea tranzitului intestinal este absentă la petidină. Metadonaexercită în plus o acţiune iritantă asupra mucoasei intestinale, datorită pH-ului său acid, ca şi a stimulării vagului, ceea ce contribuie la producerea vărsăturilor şi la apariţia colicilor abdominale. De altfel, metadona determină şi iritaţie la locul de administrare parenterală.

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Respiratorii: morfina determină:

- Deprimare respiratorie care apare la doze inferioare celor necesare analgeziei, când însă rămân nesesizate; în doze terapeutice, această manifestare este importantă, în special pentru subiecţii taraţi respirator şi pentru gravidele în ultimele luni de sarcină deoarece provoacă la noul născut deprimare respiratorie. În doze toxice deprimarea respiratorie este accidentul major în intoxicaţia acută.

- Dispnee ca urmare a bronchiolospasmului produs prin eliberare de histamină, ceea ce poate da loc la accidente grave în caz de bronşită cronică, astmă etc., unde morfina este contraindicată. Spre deosebire de morfină, petidina şi metadona, în doze terapeutice nu deprimă funcţia respiratorie, iar la doze toxice, deprimarea este moderată. Metadona deprimă însă puternic respiraţia la nou născuţi; de aceea nu poate fi administrată la gravide în ultimele luni de sarcină. Dextromoramida deprimă mai puternic respiraţia decât morfina. Petidina nu sedează tusea, în schimb reduce secreţia bronşică; deoarece cantitatea de histamină eliberată de petidină este redusă, spasmul bronşic nu are loc, iar petidina poate înlocui morfina în unele afecţiuni respiratorii.

Neuropsihice: cefalee (acţiunea directă asupra formaţiunilor din creier şi prin creşterea presiunii lichidului cefalorahidian) şi tremurături ale membrelor. În intoxicaţia cronică, manifestările neuropsihice pot duce la degradarea personalităţii şi la acte antisociale.

Tulburările neuropsihice determinate de petidină se deosebesc calitativ de acele ale morfinei, datorită asemănărilor structurale atât cu morfina, cât şi cu atropina. În doze mici petidina determină euforie şi analgezie, asemănător morfinei, dar mai puţin intens. În doze maripe lângă acţiunea analgezică apare şi excitaţie centrală, ca la atropină, exprimată prin anxietate, hiperexcitabilitate, dezorientare, halucinaţii, lipsă de coordonare motorie.

Cardiovasculare: hipotensiune datorită deprimării centrilor vasomotori bulbari şi vasodilataţie prin eliberare de histamină. Dacă morfina este administrată rapid şi nu se respectă repaosul la pat, se poate produce lipotimie şi chiar colaps.

Oculare: mioza, datorită stimulării nucleului oculomotor, cu scăderea tensiunii intraoculare; excepţional midriază, însoţită de tulburări de vedere (incapacitate de adaptare la lumină).

Petidina determină midriază, neînsoţită de creşterea tensiunii intraoculare.

B.C.U. „M. EMINESCU" IAŞI
CHIMIE

Cutanate: hipersudoraţie, prin vasodilataţie periferică şi erupţii cutanate ca urmare a eliberării de histamină.

Urinare: spasmul sfincterului vezical (micţiune dificilă şi chiar retenţie de urină).

Uterine: creşterea frecvenţei şi intensităţii contracţiilor, ca şi a tonusului fibrei musculare netede uterine, cu potenţarea substanţelor ocitocice, în cazul administrării petidinei.

Simptomatologie

Intoxicaţia acută: prezintă o etapă euforică: senzaţie de căldură şi bună dispoziţie exagerată; una de excitaţie: agitaţie psihomotorie, prurit tegumentar (în special la nas), bradicardie, tuse, vărsături; precum şi o etapă de deprimare: oboseală, somnolenţă; la doze masive apare mioză, midriază la hipoxie avansată, comă cu abolirea reflexelor şi facies palid, depresiune respiratorie cu cianoză şi hipotensiune, când poate surveni decesul.

Se mai observă retenţie de urină şi de fecale, hipotermie, tresăriri musculare.

În cazul *intoxicaţiei cronice* se disting trei etape:

1) Etapa de echilibru euforic: senzaţie de bună dispoziţie, hiperactivitatea facultăţilor psihice, fotofobie, hiperacuzie, oboseală;

2) Etapa de discordanţă: anxietate dominată de teama de a nu-şi procura drogul;

3) Etapa de stare: tulburări fizice (facies palid, privire fixă cu mioză, mers ezitant, anorexie) şi psihice (pierderea totală a voinţei, memoriei şi afectivităţii, agresivitate şi anxietate); intoxicatul nu se mai poate dispensa de drog;

4) Etapa de declin: caşexie şi depresiune psihică gravă, cu pierderea simţului moral („anestezie morală").

Tratament

Intoxicaţia acută: În cazul ingerării, imediat după ingerare, se practică spălătură gastrică cu suspensie de cărbune activat, urmată de purgativ salin. În caz de administrare parenterală recentă, se poate aplica local gheaţă sau garou, în scopul încetinirii resorbţiei. Reanimarea respiratorie se aplică după caz.

Antidotul fiziologic este nalorfina (1 mg nalorfină antagonizează 3-4 g de morfină). Se mai impune supravegere strictă pentru împiedicarea obstrucării bronşice şi tratament simptomatic (combaterea insuficienţei respiratorii şi circulatorii acute, a tulburărilor hidroelectrolitice, a convulsiilor).

Intoxicaţia cronică. Dezintoxicarea se execută numai în spitale.

Izolare

Izolarea morfinei din urină

Se alcalinizează 25 ml urină la pH 8 cu amoniac 1:1 sau cu $NaHCO_3$ şi se extrag de 2-3 ori cu câte 25 ml cloroform, diclormetan sau amestec cloroform:etanol (9:1). Alcalinizarea se face în timpul agitării cu solventul pentru extragerea morfinei în formă amorfă; în caz contrar, forma amorfă trece în formă cristalină, greu solubilizată de către solvent. Nu se utilizează baze tari, precum NaOH sau KOH deoarece se obţin fenolaţi (morfinaţi) hidrosolubili, insolubili în solvenţi organici. Extractele organice reunite sunt filtrate şi evaporate la sec pe o baie de apă la o temperatură sub 80 °C.

Izolarea metaboliţilor conjugaţi şi a morfinei din urină

Se supun 25 ml urină la hidroliză acidă prin tratare cu 10 ml HCl 15%, timp de 30 minute pe B.M. la fierbere, cu refrigerent ascendant. După răcire, se aduce la pH 8 cu amoniac concentrat sau cu $NaHCO_3$ şi se continuă extragerea, ca la izolarea morfinei din urină.

Izolarea succedaneelor sintetice ale morfinei din urină

Urina se alcalinizează la pH 8 cu $NaHCO_3$ şi se extrage cu amestec cloroform: eter (1:1). Extractul organic este evaporat la sec, apoi purificat cu ajutorul unei soluţii de acid tartric în alcool diluat. Soluţia acid-alcoolică este evaporată la sec, iar reziduul reluat cu cloroform.

Izolarea morfinei şi a congenerilor din pulberi, comprimate şi soluţii

Produsele solide sunt extrase cu alcool; lichidele şi substanţele cristalizate sunt supuse direct reacţiilor de identificare.

Toxicologia analitică a alcaloizilor este descrisă la Cap. IX *Toxicologie analitică.*

Bibliografie

Clarke, D.G., *Inhibition of the Absorption of Paraquat from the Gastrointestinal Tract by Absorbants*, în *Br J Ind Med*, 28, 1971, p. 186-188.

BCU IAŞI CENTRALĂ UNIVERSITARĂ LIBRARY

Cotrău, M., *Contributions to the Method of Chlorcyane Determination*, în *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*, 87, 1983, p. 295.

Cotrău, M., Proca, M., *Toxicologie analitică*, Editura Medicală, Bucureşti, 1988.

Cotrău, M., *Toxicologie*, Editura Didactică şi Pedagogică, Bucureşti, 1993.

Cotrău, M., Popa, L., Stan, T., Preda, N., Kincses-Ajtay, M., *Toxicologie*, Editura Didactică şi Pedagogică, Bucureşti, 1991.

Cotrău, M., *Curs de toxicologie*, V, Litografia IMF, Iaşi, 1975.

Cotrău, M., *Toxicologia substanţelor organice*, Editura Ministerul Industriei Chimice – Pentru uzul intern al unitatilor M.I.Ch., Bucureşti, 1985.

Haushka, R., *Substanzlehre. Zum Verständnis der Physik, der Chemie und therapeutischer Wirkungen der Stoffe*, Klostermann, Frankfurt am Main, 1942.

Krieger, R., *Handbook of Pesticide Toxicology*, I, 2nd edition, Academic Press, San Diego, CA, 2001.

Proca, M., Butnaru, E., Cotrău, M., Iordache, M., *Determination of the Level of Urinary Thiocyanates in 2 Microareas of Moldavia*, în *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*, 91, 1987, p. 703-706.

Proca, M., Agoroaei, L., Butnaru, E., Cotrău, M., *Peroxide Radicals in the Metabolism of Toxic Substances*, în *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*, 97, 1993, p. 287-290.

Lachman, G. (Ed), *Rudolf Steiner: An Introduction to His Life and Work*, Penguin, New York, 2007.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

6. Toxicologia mediului

Substanţe cancerigene

Cercetările legate de *etiologia şi patogeneza cancerului* au condus la ideea că anumite substanţe chimice sintetice sau naturale din mediul înconjurător (hrană, apă, aer, medicamente) sau din mediul social (alcoolul, fumatul) pot avea un rol însemnat în etiologia cancerului uman.

Sunt peste *400 substanţe chimice*, grupuri de substanţe şi procese tehnologice industriale, dintre care pentru 18 există suficiente dovezi experimentale şi epidemiologice care atestă legătura cauzală dintre expunere şi apariţia cancerului.

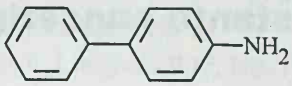
Unele substanţele pot fi *sigur cancerigene*, iar altele *probabil cancerigene.*

În grupul *substanţelor sigur cancerigene* au fost incluse unele medicamente *clorambucilul* şi *ciclofosfamida* şi alte amestecuri analgezice care conţin fenacetină; azatiopurina; 1,4-butandioldimetan-sulfonat (Mileran); asociaţii chimioterapice utilizate în tratamentul limfoamelor (Metotrexat, Oncovin, Procarbazină şi Prednison); estrogeni conjugaţi; treosulfan; metoxalen etc. Expunerea profesională la banalul azbest determină creşterea incidenţei cancerului pulmonar, precum şi un risc crescut al apariţiei cancerului gastro-intestinal şi al laringelui. Toate tipurile de fibre de azbest testate sunt cancerigene la şoarece, şobolan, hamster şi iepure producând mezotelioame şi cancer pulmonar după inhalare, administrare intrapleurală, intratraheală şi intraperitoneală.

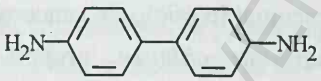
Diferiţi *compuşi ai cromului* (oxid cromic, bioxidul de crom, trioxidul de crom, cromatul de calciu) pot induce tumori pulmonare sau sarcoame la şobolani.

BCU "ASTRA" CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

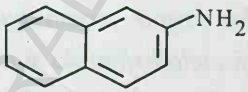
4-Aminobifenilul, antioxidant în industria cauciucului, este cancerigen la nivelul vezicii urinare la şoarece, şobolan, iepure şi câine. La om s-a observat creşterea incidenţei cancerului de vezică la muncitorii expuşi profesional la această substanţă.



Benzidina este cancerigenă la şoarece, şobolan, hamster şi câine, inducând carcinoame ale vezicii urinare şi tumori hepatice. Studiile epidemiologice au demonstrat o strânsă legătură între expunerea profesională la benzidină şi creşterea incidenţei cancerului de vezică urinară.



2-Naftilamina, administrată peroral, induce carcinoame ale vezicii urinare la câine şi la maimuţă, iar în doză mare la hamster. La şobolan şi la iepure, efectul său cancerigen este slab sau chiar nul. Se pare că există o legătură cauzală între expunerea la 2-naftilamină şi incidenţa cancerului vezicii urinare.



Bis(clormetil)eterul (BCME) ($ClCH_2OCH_2Cl$), clormetilmetileterul (CMME) ($ClCH_2OCH_3$) sunt agenţi de clormetilare.BCME este cancerigen la şoareci şi la şobolan prin inhalare şi administrare subcutanată. CMME induce sarcoame la şoarece după administrare subcutanată. Incidenţa cancerului pulmonar creşte direct proporţional la muncitorii expuşi la BCME şi CMME.

Iperita, $S(CH_2CH_2Cl)_2$ induce tumori pulmonare după inhalare sau injectare intravenoasă şi sarcoame locale după injectare subcutanată. La om s-a constatat o creştere a mortalităţii prin cancer al căilor respiratorii la subiecţii expuşi cronic la această substanţă.

Clorura de vinil ($H_2C=CHCl$), administrată peroral sau prin inhalaţii, induce carcinom pulmonar, mamar, angiosarcom al ficatului la şoarece şi la şobolan.

BCU "LUCIAN BLAGA" CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Aflatoxinele au fost găsite în mucegaiul *Aspergilus flavus*. Aflatoxinele sunt toxice la şoarece, şobolan, peşte, raţă şi maimuţă, administrate pe mai multe căi, inclusiv calea orală, şi induc în special cancer hepatic, de colon şi de rinichi.

Au fost denumite B (blue) de la fluorescenţa albastră pe care o emit în lumină ultravioletă, respectiv G (green) de la fluorescenţa verzuie, iar în funcţie de originea apariţiei pe cromatogramele în strat subţire, s-au împărţit în aflatoxine B_1, B_2, respectiv, G_1, G_2. La om există o corelaţie pozitivă între media concentraţiei aflatoxinelor din dieta populaţiei şi incidenţa cancerului primitiv hepatic.

Aflatoxinele sunt substanţe cristaline alb-gălbui. În lumină ultravioletă emit fluorescenţă albastră sau verzuie; toate prezintă absorbţie la 363 nm. Sunt substanţe insolubile în apă şi în solvenţi nepolari.

Aflatoxine produc liniile de *Aspergillus flavus* şi unii fungi precum *Aspergillus parasiticus, A. niger, A. ruber, A. weniti, A. spp., Penicilium puberulum, P. frequentas, P. citricum* etc., în condiţii corespunzătoare de temperatură şi umiditate, pe substraturi de arahide şi, în general, de plante oleaginoase. S-ar părea că aproape toate alimentele stocate în condiţii specifice de umiditate şi temperatură pot fi contaminate cu aflatoxine.

Toxicitatea aflatoxinelor. Sunt substanţe toxice acute la cele mai multe specii, dar ele au o susceptibilitate variată, în funcţie de specie, sex, vârstă.

Aflatoxinele B_1 şi G_1 în doze unice sunt letale şi au o acţiune relativ similară: la raţuşte de 50 g, DL_{50} este de 18,2 mg B_1 şi 39,2 mg G_1. Similar la şobolanii masculi DL_{50} este de 7,2 mg B_1/kg i.p. şi 14 mg G_1/kg i.p. Aflatoxinele B_2 şi G_2 au o acţiune mai slabă la raţuşte (DL_{50} = 1,76 mg B_2/kg şi, respectiv, 2,83 mg G_2/kg) şi sunt netoxice la şobolani la doze de 200 mg/kg.

Toxicitatea aflatoxinelor descreşte în ordinea: $B_1 > G_1 > B_2 > G_2$.

Carcinogenitatea aflatoxinelor. Lancaster, în 1961, prezintă acţiunea cancerigenă a făinei de arahide asupra şobolanilor. S-a observat o relaţie lineară doză-răspuns în inducerea sa. Astfel, incidenţa carcinoamelor hepatice induse de făina de arahide conţinând 0,5 ppm (mg/kg făină) aflatoxină este de 100% şi pentru 0,1 ppm de 50% la şobolanii masculi, iar la femele pentru 0,5 ppm se observă o incidenţă de 80%, iar pentru 0,1 ppm o incidenţă de aproximativ 17%.

Aflatoxina B_1 pură determină, la concentraţii de 0,015 ppm în dietă, tumori în proporţie de 100% atât pentru şobolanii masculi, cât şi pentru femele.

Aflatoxina are o acţiune cancerigenă transplacentară; puii de şobolan fac hepatoame, dacă mamele sunt hrănite cu mâncare conţinând aflatoxină, în perioada de gestaţie. Aflatoxina B_1 este cel mai puternic hepatocancerigen cunoscut. Deşi sensibilitatea în cadrul speciilor variază, toate speciile animale tratate cu aflatoxină B_1 fac tumori la ficat.

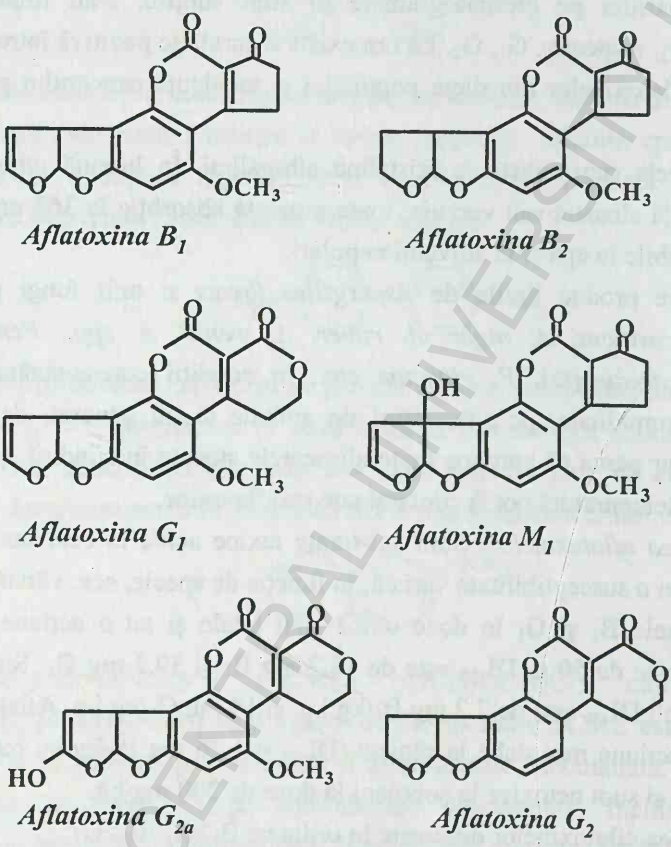


Figura 1. Structura unor aflatoxine

Metabolismul. Metabolizarea aflatoxinelor se realizează în microzomii hepatici. Şoarecele metabolizează integral aflatoxina B_1 la produşi netoxici şi aflatoxină M_1, în timp ce şobolanul poate metaboliza aflatoxina B_1; doar la aflatoxină M_1 care este un cancerigen ultim pentru această specie. Activitatea microzomală diferăde la specie la specie, în functie de vârstă şi, îndeosebi, de

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

echipamentul enzimatic. Astfel, şoarecele metabolizează integral aflatoxina B_1 la produşi netoxici şi aflatoxina M_1, în timp ce şobolanul poate metaboliza aflatoxina B_1 doar la aflatoxina M_1 care este un cancerigen ultim pentru această specie (Cotrău *et al.*, 1993).

Pe lângă aflatoxină, unele specii de mucegaiuri mai produc şi alte tipuri de micotoxine cancerigene, cum ar fi: sterigmatocistina, patulina, ochratoxina, luteoskirina, islanditoxina, griseofulvina, acidul kojik, acidul penicilic, zearalenona, toxina T-2 şi toxina F-2.

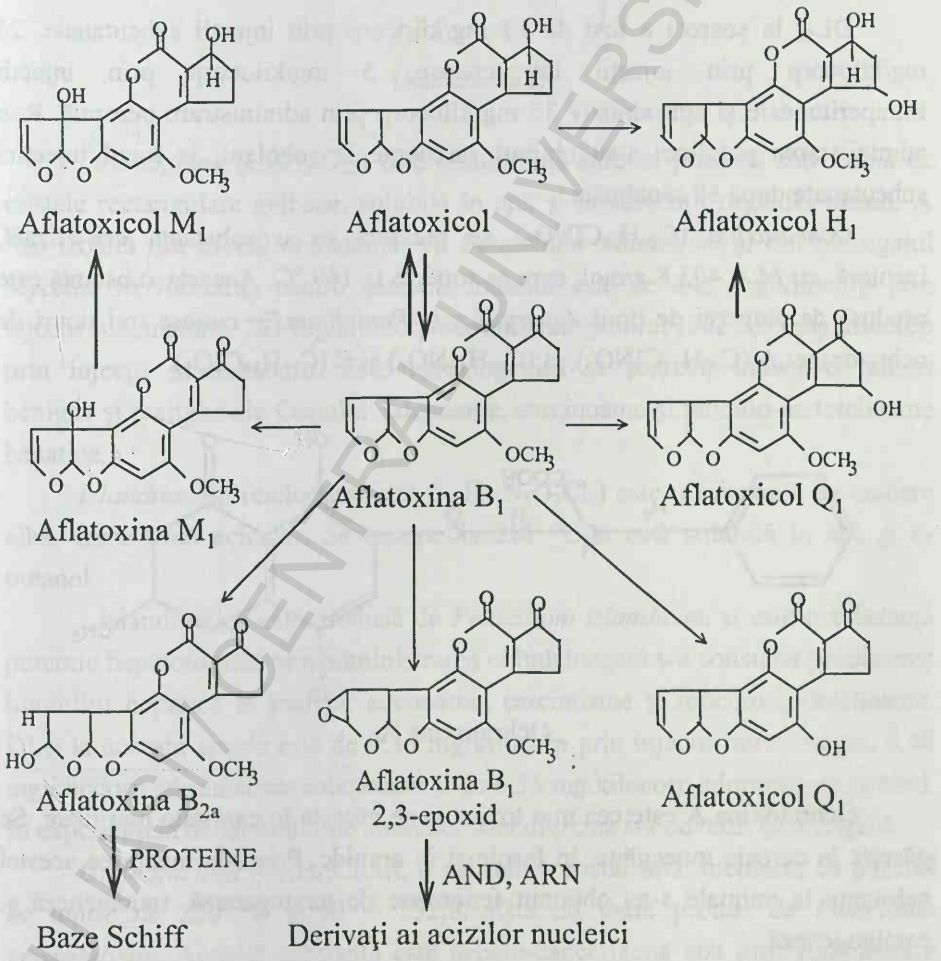
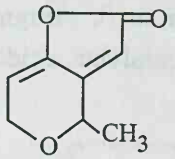


Figura 2. Metabolizarea aflatoxinei B

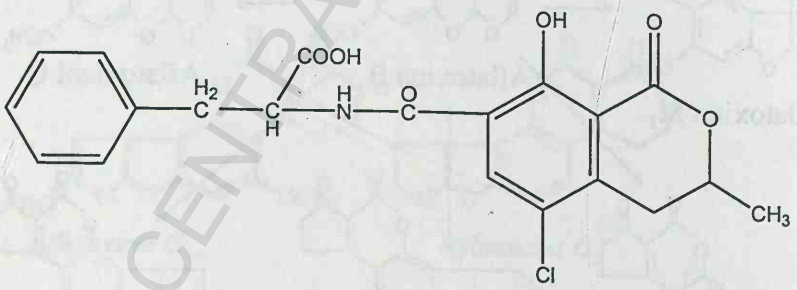
BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Patulina ($C_7H_6O_4$). Substanţa pură se prezintă sub formă de prisme sau plăci incolore, este solubilă în apă şi solvenţi organici uzuali, cu excepţia eterului de petrol. Este produsul de metabolism al unor specii de ciuperci şi anume: *Penicillium claviforme, P. patulum, P. expansum, Aspergillus clavatus, A. giganteus* etc.



DL_{50} la şoareci a fost de 15 mg/kilocorp prin injecţii subcutanate, 25 mg/kilocorp prin injecţii intravenoase, 5 mg/kilocorp prin injecţii intraperitoneale şi aproximativ 35 mg/kilocorp prin administrare peroralã. Prin administrarea patulinei s-au obţinut sarcoame la şobolani, la locul injecţiei subcutanate după 69 săptămâni.

Ochratoxina ($C_{20}H_{18}ClNO_6$) se prezintă ca o substanţă cristalizată, incoloră, cu M = 403,8 g/mol, care se topeşte la 169 °C. Aceasta substanţă este produsă de ciuperci de tipul *Aspergillus* şi *Penicilium*.Se cunosc trei tipuri de ochratoxine: A ($C_{20}H_{18}ClNO_6$), B ($C_{20}H_{19}NO_6$) şi C ($C_{11}H_{19}ClO_5$).



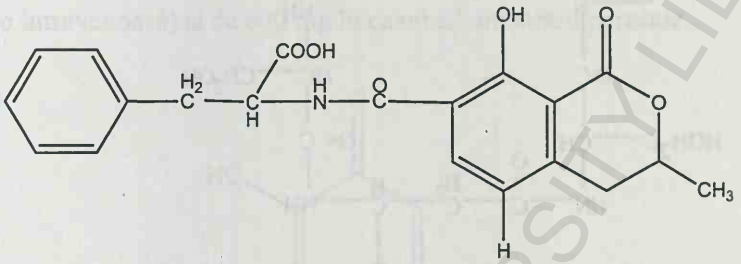
Ochratoxina A

Ochratoxina A este cea mai toxică şi se găseşte în cantitate mai mare. Se găseşte în cereale mucegăite, în fasole şi în arahide. Prin administrarea acestei substanţe la animale s-au obţiunut fenomene de teratogeneză, mutageneză şi carcinogeneză.

La şoareci, nu s-au observat tumori experimentale, însă la şobolan, la doze de 2-5 mg/kilocorp prin injecţii subcutanate, animalele au prezentat fibro-

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

sarcoame locale. La administrarea peroral în doze de 100 sau 300 mg/şobolan timp de 50 săptamâni, s-a raportat numai un singur caz de tumoră a rinichiului. De aceea, nu se poate trage în mod cert concluzia ca ochratoxina ar fi cancerigenă.



Ochratoxina B

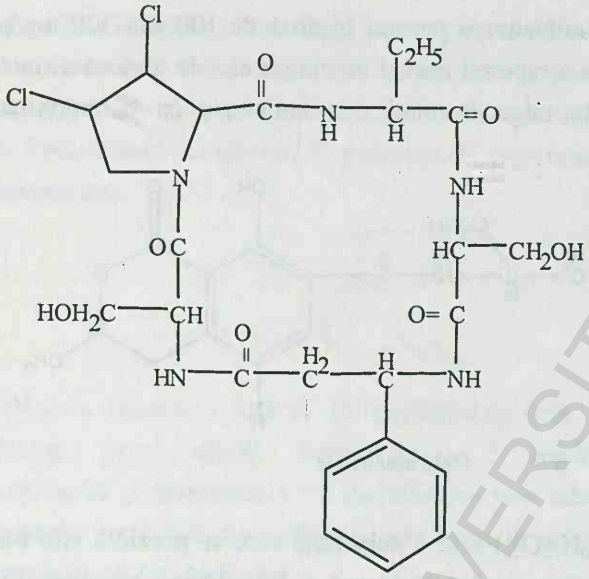
Luteoskirina ($C_{30}H_{22}O_{22}$) este o substanţă care se prezintă sub formă de cristale rectangulare galbene, solubilă în apă şi în solvenţii organici uzuali. A fost izolată din orezul contaminat cu *Penicilium islandicum* şi din mucegaiul *Mycella sterilia*.DL_{50} pentru şoarecii masculi este de 145 mg/kilocorp prin injecţii subcutanate, 221 mg/kilocorp administrate peroral şi de 6,65 mg/kilocorp prin injecţii intravenoase. Este carcinogenică la şoareci, inducând tumori benigne şi maligne ale ficatului: adenoame, carcinoame şi reticulo-endotelioame hepatice.

Islanditoxina (cicloclorotina: $C_{24}H_{31}N_5O_7Cl_2$) este o substanţă de culoare albă, cristalizată acicular. Se topeşte la 251 °C şi este solubilă în apă şi *n*-butanol.

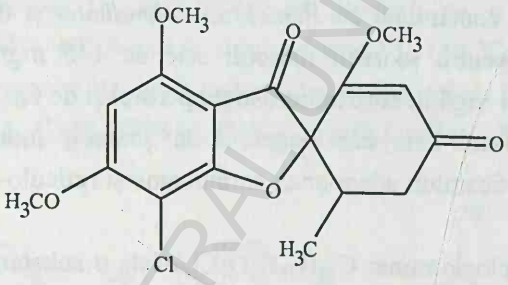
Islanditoxina este produsă de *Penicilium islandicum* şi este o substanţă puternic hepatotoxică; prin administrarea ei îndelungată s-a constatat producerea tumorilor hepatice la şoareci: adenoame, carcinoame şi reticulo-endotelioame. DL_{50} la aceasta specie este de 0,33 mg/kilocorp prin injectii intravenoase, 0,48 mg/kilocorp administrate subcutanat şi de 6,55 mg/kilocorp administrate peroral. În experienţele de laborator pe animale, islanditoxina s-a dovedit cancerigenă.

Griseofulvina ($C_{17}H_{17}ClO_6$), o substanţă cristalizată, incoloră, cu punctul de topire de 220 °C şi M = 352,8. Este un toxic produs de *Penicilium griseofulvum*. Această substanţă este hepato-cancerigenă atât prin administrare perorală la şoareci adulţi, cât şi subcutanat la pui masculi de şoarece.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY



Inslanditoxina



Griseofulvina

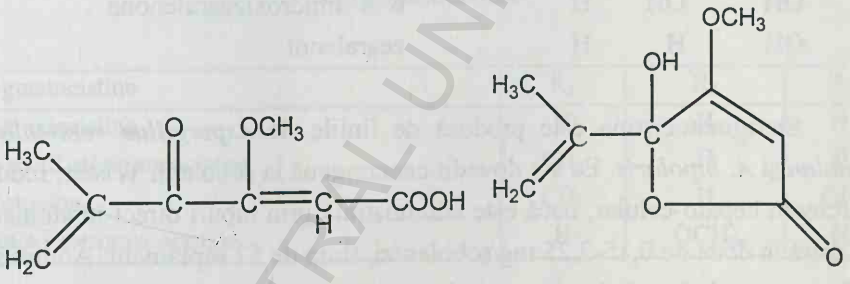
Acidul kojik ($C_6H_6O_4$) se obţine din fructoză sau manită cu ajutorul bacteriilor oxidante acetice. Ciupercile de tipul *Aspergillus* sintetizează acidul kojik şi din alte zaharuri. Este un metabolit produs de *Aspergillus tamari*, *A. orizae*, *A. flavus*, *A. candidus*, *Verticilium dahlia*, *Penicilium sp.* DL_{50} este de 250 mg/kilocorp la şoarece şi de 150 mg/kilocorp la câine, dacă dozele sunt administrate parenteral. Cercetările recente au demonstrat faptul că acidul kojic are o acţiune cancerigenă.

Acidul penicilic ($C_8H_{10}O_4$) este o substanţă cristalizată, incoloră, solubilă în apă caldă, etanol, eter, benzen şi chloroform, cu punctul de topire de 84,5 °C. Acidul penicilic este o micotoxină izolată pentru prima dată în *Penicilium puberulum* în 1913 de către Alsberg şi Black. Se găseşte în grânele infestate cu

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Penicilium martensii. Depozitarea la temperaturi scăzute şi umiditate ridicată a cerealelor infestate cu această ciupercă poate să conducă la creşterea cantităţii de toxină produsă. Acidul penicilic induce sarcoame locale sau fibrosarcoame la şoarecii şi şobolanii injectaţi subcutanat. DL_{50} la şoareci este de 250 mg/kilocorp (injectare intravenoasă) şi de 600 mg în cazul administrării perorale.

Acidul kojik

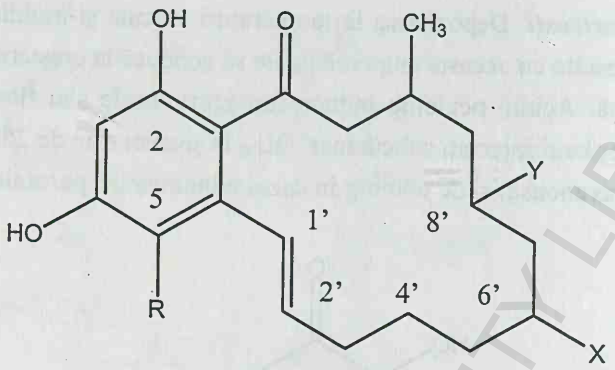


Acid penicilic

Zearalenoa ($C_{18}H_{22}O_5$) este un metabolit din *Fusarium gramenearum*, *F. tricinctum*, *F. oxysporum* şi *F. moniliforme*, cu o acţiune posibil cancerigenă datorită activităţii sale estrogenice. Este un compus alb cristalin, cu punctul de topire de 164-165 °C.

Sterigmatocistina ($C_{18}H_{12}O_6$) se prezintă sub formă de cristale aciculare, de culoare galben-pal care se topesc la 246 °C. Este insolubilă în apă, greu solubilă în cei mai mulţi solvenţi organici şi uşor solubilă în cloroform, piridină şi dimetilsulfoxid. Emite o fluorescenţă roşu-portocalie în lumină ultravioletă.

BCU IASI - CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY



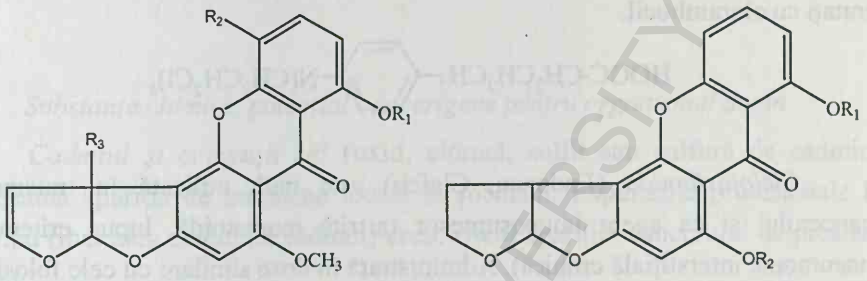
X	Y	R	
=O	H	H	zearalenona
=O	OH	H	8' hidroxizearalenona
=O	H	CHO	5-formilzearalenona
OH	OH	H	6',8-dihidroxizearalenona
OH	H	H	zearalenol

Sterigmatocistina este produsă de liniile de *Aspergillus versicolor*, *A. nidulan* şi *A. bipolaris*. Ea s-a dovedit cancerigenă la şobolanii Wistar, inducând carcinom hepato-celular, dacă este administrată prin tuburi direct în stomac sau în dietă în doza de 0,15-2,25 mg/şobolan/zi, timp de 52 săptămâni. Administrată subcutanat sub formă de suspensie în ulei de arahide, în doză totală de 24 mg (0,5 mg/injecţie) a indus carcinoame la locul injecţiei, cel mai târziu până la 65 de săptămâni. DL_{50} = 60 mg/kg greutate corporală la şobolanii injectaţi intraperitoneal.

La şoarecii în hrana cărora s-au adăugat 5 mg/kg sterigmatocistina de dietă sau 5 mg/kg *Aspergillus versicolor* în cultură de dietă, timp de 58 săptămâni, s-a observat apariţia de adenoame şi adenocarcinoame pulmonare. În principiu, nu există o singură sterigmatocistină, ci un grup de astfel de substanţe, unele dintre ele izolate din *Aspergillus flavus*: asperotoxina, respectiv, 3-hidroxi-6,7-dimetoxi-difuroxantona, O-metil-sterigmatocistina, iar altele izolate din *A. versicolor*: 5-metoxi-sterigmatocistina; 6-dimetil-sterigmatocistină, dihidro-sterigmatocistina şi dihidro-dimetil-sterigmatoscina.

BCU IASI CENTRALA UNIVERSITY LIBRARY

Formula sterigmatocistinei este asemănatoare cu formula aflatoxinelor şi deci, din punctul de vedere al acţiunii biologice, există o asemănare între cele două micotoxine. Activitatea hepatocarcinogenică a sterigmatocistinei este însă de 10 ori mai slabă decât activitatea hepato-carcinogenă a aflatoxinei B_1. Structura 2,3-furano-furanică nesaturată a sterigmatocistinei sugerează că oxidul acesteia ar putea fi un carcinogen ultim.



Sterigmatocistine

Sterigmatocistine	R_1	R_2	R_3
Sterigmatocistina	H	H	H
Orto-metil-sterigmatocistina	CH_3	H	H
Aspertoxina	CH_3	H	OH
5-Metoxi-sterigmatocistina	H	OCH_3	H

Dihidro-sterigmatocistine	R_1	R_2
Dihidro-o-metil-sterigmatocistina	CH_3	CH_3
Dihidro-sterigmatocistina	H	CH_3
Dihidro-dimetil-sterigmatocistina	H	H

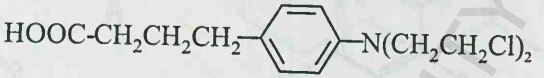
Din unele specii de *Fusarium* au mai fost extrase şi alte toxine, cum ar fi *toxina T-2* din grupul tricotecenelor şi *toxina F-2*, ambele cancerigene. Lipsesc însă datele clinice care să indice fără echivoc apariţia tumorilor maligne la om, determinate de micotoxine. Totuşi, datele experimentale permit indirect să se stabilească cancerogenitatea acestor micotoxine.

Unele micotoxine pot fi implicate în patogeneza leucemiei, probabil ca o expresie a efectelor imunosupresive, determinându-se mucegaiuri în locuinţele bolnavilor. Rezultatele indică prezenţa crescută a micotoxinelor din fungi cu

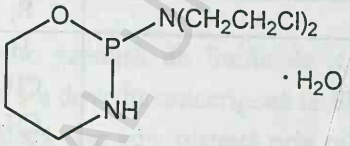
BCU WSU CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

acţiune oncogenă în casele bolnavilor cu cancer, speciile predominante de fungi fiind *Aspergillus flavus* şi *Penicilium ssp.*

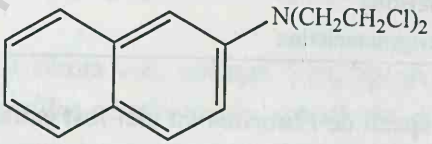
Medicamente: *Clorambucilul* este un medicament antineoplazic aplicat în tratamentul unor leucemii şi limfoame. Administrarea sa intraperitoneală induce însă limfoame la şobolani şi limfosarcoame, tumori ovariene şi pulmonare la şoarece. Paradoxal, au fost relatate cazuri de leucemie şi cancer renal la bolnavii trataţi cu clorambucil.



Ciclofosfamida (Endoxan, Clafen) este mult utilizată în tratamentul cancerului şi ca agent imunosupresor (artrită reumatoidă, lupus eritematos, pneumonie interstiţială cronică). Administrată în doze similare cu cele folosite în clinica umană, ciclofosfamida induce la şoareci şi şobolani tumori pulmonare, limforeticuloame, tumori hepatice, ale organelor de reproducere, sarcoame şi carcinoame, tumori ale vezicii urinare.



Clornafazina (N,N-bis (2-cloretil)-2-naftil-amina) constituie unremediu antineoplazic. La animale, induce tumori pulmonare după administrare intraperitoneală (şoarece) şi sarcoame locale (şobolan) după injectare subcutanată.

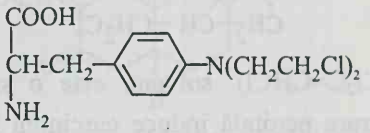


La om creşte incidenţa cancerului de vezică urinară la bolnavii cu *policitemia vera* trataţi cu clornafazină.

Melfalanul (Sarcolizina) este utilizat în clinica umană ca agent antineoplazic în tratamentul mielomului multiplu, melanomului malign, adenocarcinomului de ovar. La şoareci a provocat cancer pulmonar şi sarcoame, iar la şobolani fibrosar coame mamare. La om au fost semnalate cazuri de

BCU "Ion Creangă" CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

cancere secundare, în special leucemii acute, la bolnavii trataţi cu melfalan pentru o altă tumoare primară (Einhorn, 1978).



Substanţe chimice, potenţial cancerigene pentru organismul uman

Cadmiul şi compuşii săi (oxid, clorură, sulfit sau sulfură de cadmiu) determină apariţia de sarcoame locale la şobolani. Expunerile profesionale la cadmiu (mai ales oxidul de cadmiu) cresc riscul apariţiei cancerului de prostată la om.

Nichelul şi compuşii săi (oxid, carbonat) induc sarcoame la şoarece, şobolan şi hamster. *Tetraclorura de carbon* (CCl_4) este cancerigenă, inducând tumori hepatice asociate cu ciroză. *Dimetilsulfatul* [$(CH_3)_2SO_4$], utilizat în industria farmaceutică, este cancerigen după inhalare.

Amitrolul, un erbicid, administrat peroral sau în injecţii subcutanate induce tumori tiroidiene şi hepatice la şoarece şi şobolan. La om creşte riscul, diferenţele fiind statistic semnificative.

Derivaţi policloruraţi ai difenilului sunt cancerigeni la şoarece şi la şobolan după administrare pe cale orală, inducând tumori hepatice. La om creşte incidenţa melanomului malign la cei expuşi.

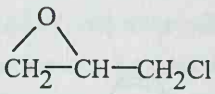
Beriliul şi compuşii acestuia sub formă de pulbere de sulfat de beriliu, minereu de beriliu şi bertrandită au indus tumori pulmonare la şobolani în urma inhalării acestora. Prin administrare intravenoasă de silicat de beriliu şi zinc, fosfat de beriliu şi beriliu metalic s-au obţinut tumori osoase la iepuri.

Alte substanţe probabil cancerigene: dicarbazina; procarbazina; bis-clormetilnitrozourea; 1-(2-cloretil)-3-ciclohexil-1-nitrozourea etc.

Epiclorhidrina este un solvent pentru răşinile naturale şi sintetice. Injectată subcutanat la şoarece, induce sarcoame locale. La om s-a constatat o creştere a mortalităţii prin cancer al căilor respiratorii şi leucemii la muncitorii

BCU "VASILE GOLDIŞ" WESTERN UNIVERSITY LIBRARY

expuşi prin profesie la această substanţă, dar creşterea este nesemnificativă statistic.

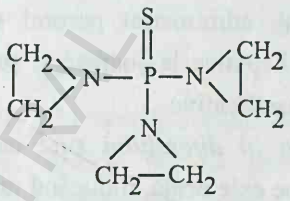


Tricloretilena ($Cl_2C=CHCl$), solvent, este o substanţă cancerigenă la şoarece; după administrare perorală induce carcinom hepato-celular şi tumori pulmonare.

Stirenul induce tumori pulmonare la şoarece după administrare perorală. La oamenii expuşi profesional la stiren, benzen şi butadienă au fost semnalate cazuri de leucemie şi limfom.

Plumbul şi sărurile de plumb conduc la tumori renale benigne şi maligne la şobolani.

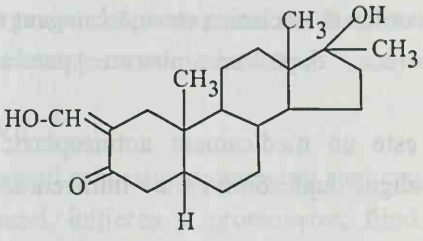
Medicamente: *Tio-tepa* (Trietilen-tiofosfamida) este un antineoplazic folosit în tratamentul adenocarcinomului mamar şi ovarian, limfoamelor maligne, carcinomului bronşic etc. Este cancerigenă la şoareci şi şobolani. La om au fost raportate unele cazuri de leucemie în urma tratamentului cu Tio-TEPA.



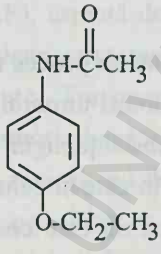
Fier-dextranul, medicament utilizat în tratamentul anemiei feriprive, induce tumori locale după injectare subcutanată şi intramusculară.

Oximetolona, medicament anabolizant, provoacă tumori hepatice la bolnăvii trataţi cu această substanţă, singură sau asociată cu alte medicamente androgene. Există riscul unei terapii îndelungate cu acest medicament în clinică.

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

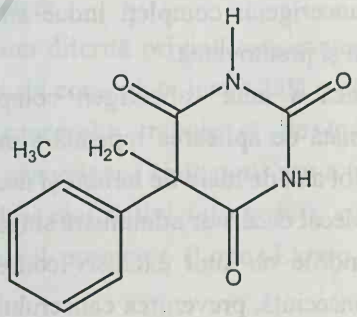


Fenacetina, medicament antipiretic şi analgezic, dezvoltă tumori ale căilor urinare şi nazale la şobolan. N-hidroxi-fenacetina, un metabolit al acesteia, induce carcinoame hepatice după administrare peroralã la şobolani.La om fenacetina induce necrozã papilarã a rinichiului, care ar putea degenera în cancer.



Fenitoina, utilizată în tratamentul epilepsiei şi a tulburărilor psihomotorii, s-a dovedit cancerigenă la şoarece după administrare intraperitoneală sau peroralã, inducând limfoame şi leucemii.

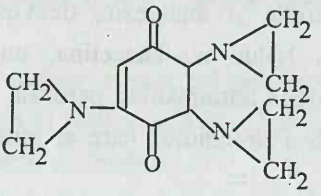
La om s-a constatat o strânsă relaţie între apariţia limfoamelor şi chimioterapia anticonvulsivantă pe termen lung cu fenitoină. Fenobarbitalul este de asemenea cancerigen la şoareci şi şobolani.

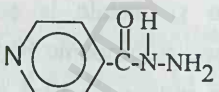


BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Izoniazida este utilizată în clinica umană ca agent tuberculostatic. Induce însă cancer la şoarece, după administrare perorală, subcutanată sau intraperitoneală.

Triazichinona este un medicament antineoplazic. Induce şi acesta o varietate de tumori maligne după administrare intravenoasă şi intraperitoneală la şobolani.





Oncogeneza este considerată un proces multistadial, determinat de agenţii cancerigeni şi influenţat de promotori tumorali. Administrarea unei doze unice, sub pragul cancerigen, dintr-o substanţă sigur cancerigenă, pe pielea animalelor de experienţă induce modificări în câteva celule, care nu sunt perceptibile dacă tratamentul cu agentul cancerigen nu este continuat, deoarece nu se ajunge la dezvoltarea tumorii. Această primă etapă a cancerogenezei chimice a fost denumită „iniţiere" şi poate fi realizată numai de către o substanţă chimică sigur cancerigenă.

Etapa a doua a cancerogenezei chimice, *promovarea*, favorizează exprimarea modificărilor care rezultă în decursul procesului de iniţiere. Promovarea are loc după o perioadă de săptămâni sau luni de la acţiunea de iniţiere a agentului cancerigen; ea nu este ireversibilă, ci mai degrabă poate fi reversată în anumite împrejurări. Cancerigenii compleţi induc ambele etape ale cancerogenezei, atât iniţierea, cât şi promovarea.

Administrarea unică a unui cancerigen complet, 7,12-dimetilbenzantracenului (DMBA), urmată de aplicarea repetată a unui promotor conduce la dezvoltarea unui număr tot atât de mare de tumori şi necesită o cantitate de 20 de ori mai mică de DMBA decât dacă s-ar administra singur.

Se admite că tumorile nu sunt exclusiv consecinţa inevitabilă a unei leziuni genetice şi, în consecinţă, prevenirea cancerului trebuie să fie îndreptată atât în direcţia îndepărtării substanţelor cancerigene (iniţiatori) sau împiedicării

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

metabolizării lor în organism la produşi mai activi (electrofili), cât şi a evitării expunerii repetate la substanţe cu rol promotor.

Inducerea tumorii

Cei mai mulţi agenţi cancerigeni cunoscuţi sunt capabili să inducă ambele etape ale cancerogenezei, iniţierea şi promovarea, fiind denumiţi cancerigeni compleţi. Dar aceeaşi cancerigeni compleţi, administraţi în doze mici şi unice, actionează numai ca iniţiatori ai procesului tumoral. Numai în doze mari şi administraţi repetat cancerigenii complete sunt şi iniţiatori şi stimulanţi ai dezvoltării tumorii (Pitot, 1980; Jaffe, 2003; Chiricuţă, 1984).

Peraino şi colaboratorii săi (1973) au administrat o perioadă limitată de timp 2-acetil-amino-fluoren (AAF), urmată de administrarea pe termen lung a fenobarbitalului. Rezultatul acestui tratament a fost creşterea incidenţei carcinoamelor hepatico-diferenţiate. Tratamentul efectuat numai cu 2-acetil-aminofluoren induce câteva tumori hepatice, dar administrarea numai a fenobarbitalului nu induce deloc tumori sau da o incidenţă scăzută a tumorilor după o perioadă de latent foarte lungă (Pitot *et al.*, 1978).

Teoria cancerogenezei multistadiale poate explica creşterea incidenţei cancerului pulmonar în rândul muncitorilor care lucrează cu azbest şi care sunt şi fumători. Astfel, întreruperea fumatului de către acest grup de muncitori scade incidenţa cancerului pulmonar.

S-a constat faptul că estrogenii de sinteză administraţi sub forma anticoncepţionalelor determină adenoame hepatice. Alcoolul, care nu este cancerigen în nici un model experimental testat, este un agent promotor la om pentru câteva tipuri de cancer.

O viziune oarecum diferită privind cancerogeneza admite posibilitatea că tumorile nu sunt exclusiv consecinţa inevitabilă a unei leziuni genetice şi, în consecinţă, prevenirea cancerului trebuie să fie îndreptată atât în direcţia îndepărtării substanţelor cancerigene (iniţiatori) sau a impiedicării metabolizării lor în organism la produşi mai activi (electrofili), cât şi a evitării expunerii repetate la substanţe cu rol promotor (Lopez-Lazaro, 2010; Fodde & Smits, 2002).

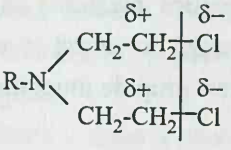
BCU "ION CREANGĂ" UNIVERSITY LIBRARY

Activarea metabolică a substanţelor chimice

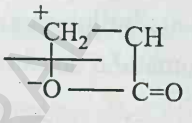
Observaţii mai vechi au sugerat că metabolizarea substanţelor chimice cancerigene *in vivo* ar constitui factorul-cheie în explicarea acţiunii lor cancerigene. S-a demonstrat astfel legarea covalentă a unui metabolit al dimetil-azobenzenului (DAB) la proteinele hepatice solubile la şobolanii hrăniţi cu acest colorant. Se formează complecşi între derivaţii unor amine aromatice (2-acetilaminofluoren, AAF), precum şi a altor clase de substanţe chimice cancerigene (hidrocarburi aromatice policiclice) şi proteinele ţesuturilor ţintă (ficat, piele).

S-au mai identificat aducţi ai derivaţilor cancerigenilor chimici cu ADN-ul, ARN-ul şi proteinele din ţesuturile ţintă. Majoritatea cancerigenilor chimici îşi manifestă acţiunea numai după activarea metabolică în organism sub forma unor cancerigeni ultimi (finali). Excepţie fac substanţele chimice alchilante şi acilante, care sunt electrofile în forma lor naturală, putând să fie implicate în reacţii cu macromoleculele celulare.

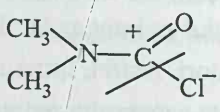
Agenţi alchilanţi



Gaz mustar



β-propiolactona



Clorura de dimetilcarbamoil

Unele date experimentale susţin faptul că formele ultime ale cancerigenilor chimici sunt reactanţi electrofili puternici. În felul acesta, substanţe chimice cu structuri diferite ajung prin activare metabolică în organism sub forma metaboliţilor activi, care au ca trăsătură comună electrofilia. Aceşti cancerigenii conţin în molecula lor atomi deficitari în electroni, care pot să reacţioneze cu centrii nucleofili, adică cu atomi care posedă o pereche de electroni capabili să formeze o legătură chimică. Astfel de centri nucleofili întâlnim în macromoleculele celulare, cum ar fi acizii nucleici (atomi de azot, carbon şi oxigen) şi proteine (atomi de azot, sulf şi oxigen).

BCU "ST. CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Activitatea biochimică a cancerigenilor chimici în organism este inițiată de sistemele enzimatice și anume de oxidaze cu funcție mixtă, dependente sau nu de citocromul P_{450}, existente în microzomi.

Sistemele enzimatice care metabolizează medicamentele și ajută la detoxifierea organismului de substanțe nocive, sunt identice cu cele care activează substanțele chimice cancerigene la forme mai cancerigene și mutagene.

Cancerigenii ultimi, o dată formați, reacționează, de obicei neenzimatic, cu centrii nucleofili din macromoleculele celulare *in vivo*. Interesul deosebit pentru acești derivați îl constituie interacțiunile covalente ale acestor reactanți electrofili cu macromoleculele informaționale ADN, ARN și proteine. Deoarece cei mai mulți dintre cancerigenii chimici sunt metabolizați în organism la mai mult decât un tip de cancerigen ultim și pentru că sunt mai mulți centri nucleofili în fiecare macromoleculă, există posibilitatea formării mai multor complecși cu ADN, ARN și proteine pentru fiecare cancerigen ultim în parte. De aceea, nu se poate ști care dintre acești complecși sunt mai importanți pentru cancerogeneză.

Activarea metabolică a aminelor și a amidelor aromatice

Cancerogenitatea aminelor și a amidelor aromatice depinde de transformarea lor în organism în derivați N-hidroxilați și convertirea mai departe a acestora la metaboliți mai reactivi, care se leagă covalent la centrii nucleofili din macromoleculele celulare.

2-Acetil-aminofluorenul (AAF)

Șobolanii hrăniți cu AAF excretă prin urină un metabolit al acestuia, N-hidroxi-2-acetilamino-fluorenul, a cărui concentrație crește proporțional cu cantitatea de AAF administrată. Metabolitul menționat este un cancerigen mai puternic decât compusul de origine. Studiile efectuate *in vivo* cu izotopi marcați au arătat că administrarea ambilor produși (AAF și N-hidroxi-AAF) la șobolani conduce la formarea de aducți cu acizii nucleici și proteinele hepatice, care au fost evidențiați și separați prin tehnici cromatografice din ficatul acestor animale. *In vitro*, aceiași compuși nu formează aducți cu acizii nucleici și proteinele. S-a ajuns astfel la ipoteza conform căreia N-hidroxi-AAF ar suferi o nouă activare în organism, etapa secundară de activare metabolică ce duce la

derivaţi electrofili mai puternici, ce reacţionează cu centrii nucleofili din macromoleculele celulare.

King şi Olive au demonstrat în 1975 că activitatea N-hidroxi-AAF în ficat are loc sub acţiunea unei enzime localizată în citosolul acestei celule cu formarea esterului sulfuric al N-hidroxi-AAF, considerat cancerigenul ultim major al N-hidroxi-AAF în ficatul de şobolan. S-a ajuns la concluzia că ar exista o corelaţie între activitatea sulfotransferazei hepatice şi susceptibilitatea animalelor hrănite cu AAF de a dezvolta tumori hepatice.

Cu toate acestea, s-a mai găsit că există şi alţi derivaţi ai N-hidroxi-AAF care şi ei sunt foarte activi atât din punct de vedere cancerigen, cât şi mutagen. N-hidroxi-2-acetil-aminofluorenul suferă o oxidare catalizată de o peroxidază cu formarea unui radical nitroxid liber. Doi asemenea radicali pot, prin dismutare, să formeze N-acetoxi-2-aminofluorenul, un reactant electrofil puternic şi 2-nitrozofluorenul, inactiv.

Diverse amine aromatice

Activarea aminelor şi amidelor aromatice depinde de convertirea lor la compuşi N-hidroxilaţi. Metaboliţii ultimi, potential cancerigeni, nu pot fi identificaţi în toate cazurile şi, de asemenea, reacţiile intermediare care conduc la aceşti metaboliţi diferă în funcţie de substituenţii aril, de ţesut sau de specie.

Metabolismul coloranţilor aminoazoici. Metabolizarea N-metil-4-aminoazobenzenului (MAB) are loc la derivaţi N-hidroxilaţi urmată de convertirea acestora la esteri ai acidului sulfuric. Oxidarea coloranţilor aminoazoici în organism este catalizată de o oxidază microzomială flavo-proteică, independentă de citocromul P_{450}, deosebindu-se astfel de cea care hidroxilează AAF.

Activarea în continuare a coloranţilor aminoazoici se face sub acţiunea sulfotransferazei, care are specificitate de substrat, deosebindu-se astfel de aceea care activează 2-acetilaminofluorenul. Esterii sulfurici formaţi sunt reactanţi electrofili puternici şi formează aducţi cu ADN, substituţia făcându-se ca şi în cazul AAF la C_8 al guaninei (aductul principal) şi N_2 al acesteia.

Metabolismul 2-naftilaminei şi al 4-aminodifenilului. Prin instilări repetate cu N-hidroxi-2-naftilamină la nivelul vezicii urinare la câine, apar tumori în acest organ. S-a constatat, de asemenea, o strânsă corelaţie între gradul

de cancerogenitate al 1-naftilaminei (necancerigenă ca atare), 2-naftilaminei şi 4-aminodifenilului, cu producerea methemoglobinei (care măsoară N-hidroxilarea acestora în sânge) şi concentraţia produşilor N-hidroxilaţi în urină. S-ar părea că N-hidroxilarea acestor arilamine ar fi factorul molecular cheie în producerea cancerului de vezică urinară.

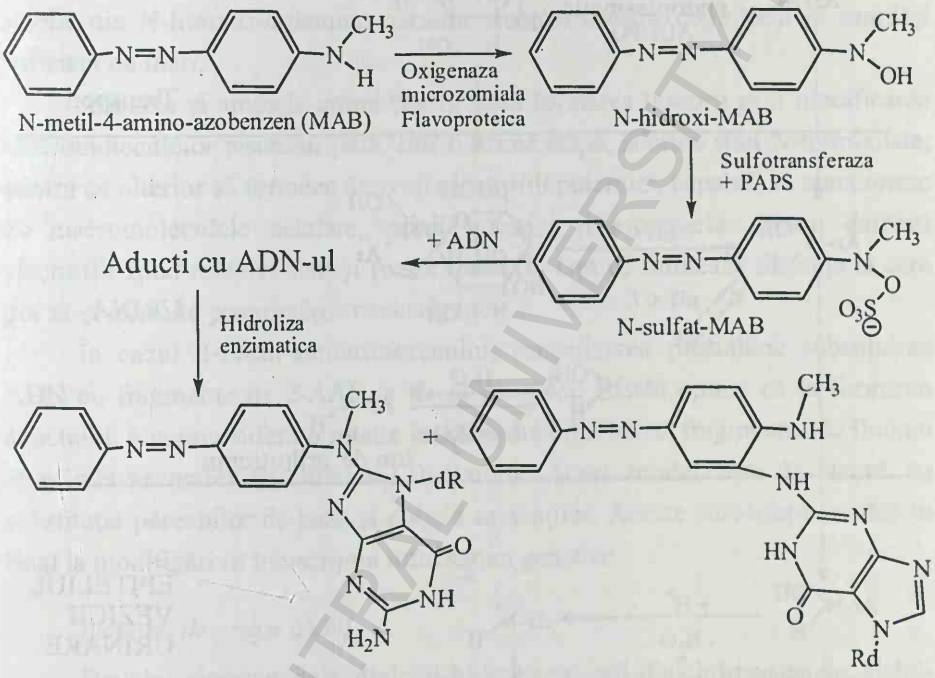


Figura 3. Posibilul mecanism de acţiune cancerigenă a N-metil-4-amino-azobenzenului (MAB)

Mecanismul probabil al producerii cancerului de către 2-naftilamină şi 4-aminodifenil ar fi următorul: aceşti compuşi sunt N-hidroxilaţi în ficat sub acţiunea oxigenazelor mixte dependente de citocromul P_{450} şi conjugaţi în continuare de asemenea în ficat cu acid glucuronic. Din ficat, metaboliţii respectivi sunt transportaţila vezica urinară sub formă inactivă şi solubilă prin sânge. Aici, glucuronoconjugaţii hidrolizează în mediul slab acid al urinei sau sub acţiunea β-glucuronidazei urinare, punând în libertate compusul activ N-hidroxilat. În mediul urinar acid, compuşii hidroxilaţi conduc la ioni de

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

arilnitreniu, care sunt probabil cancerigenii ultimi, responsabili de inducerea cancerului de vezică.

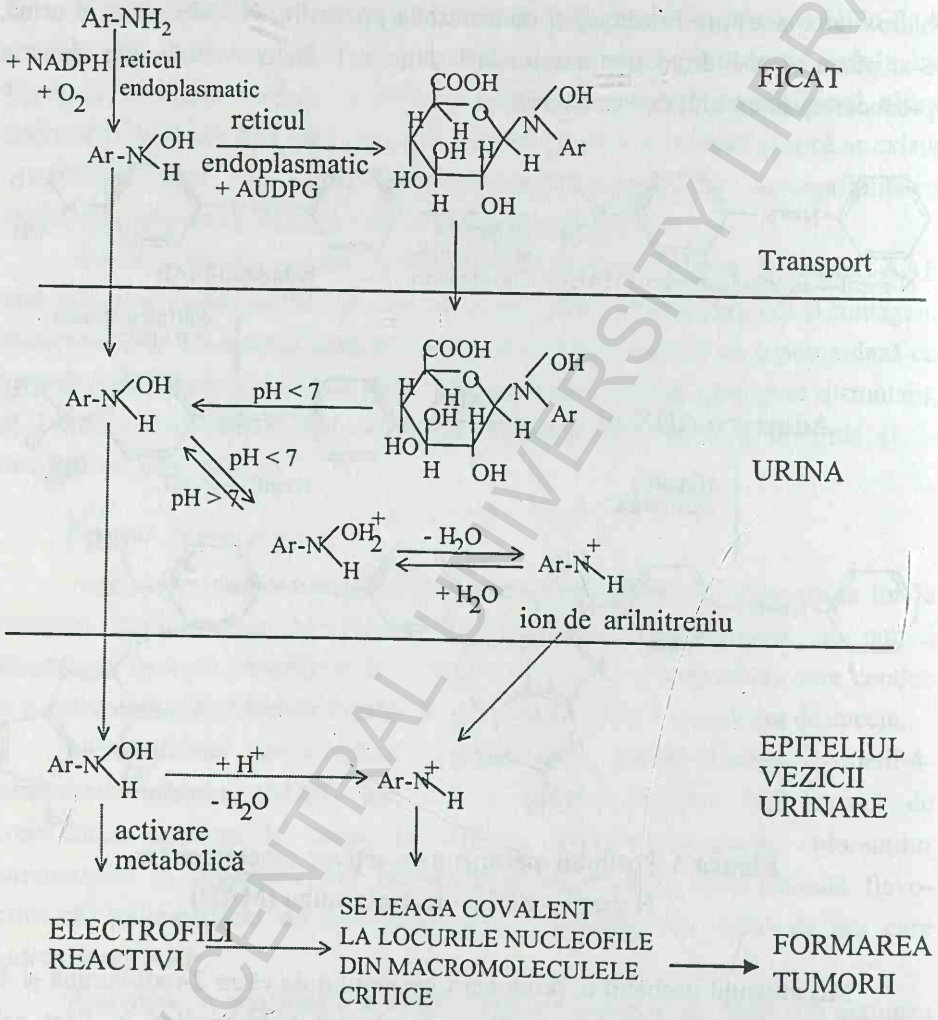


Figura 4. Formarea şi transportul metaboliţilor cancerigeni ai aril-aminelor (Ar - substituient aromatic, AUDPG - acid uridin-difosfoglucuronic, transport sau reacţie)

Există o corelaţie cantitativă între cancerogenitatea 1-naftilaminei, 2-naftilaminei şi 4-aminodifenilului pentru vezica urinară la câine cu nivelul excreţiei N-hidroxilaminelor corespunzătoare. Argumente în plus în acest sens

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

sunt aduse de experienţe care au indus carcinoame ale vezicii urinare prin instilaţii cu N-hidroxi-2-naftilamină, dar nu şi cu 2-naftilamină. Rolul metaboliţilor urinari ai 2-naftilaminei în inducerea cancerului vezicii urinare la câine a fost bine ilustrat. Astfel, protejând epiteliul vezicii urinare de contactul cu urina nu apar tumori, în timp ce epiteliul vezicii expus la urină se transformă neoplazic (Kadlubar *et al.*, 1977; 1981). Formarea *in vitro* a N-glucuronidelor stabile din N-hidroxi-arilamine permite izolarea acestor complecşi în cantităţi suficient de mari.

Amidele şi aminele aromatice iniţiază formarea tumorii prin modificarea macromoleculelor ţesutului ţintă. Într-o primă etapă, acestea sunt N-hidroxilate, pentru ca ulterior să formeze derivaţi electrofili puternici, capabili să reacţioneze cu macromoleculele celulare, acizii nucleici şi proteinele. Aceşti derivaţi electrofili fiind reactivi sunt şi foarte instabili, fapt ce limitează distanţa la care pot să-şi exercite proprietăţile cancerigene.

În cazul 2-acetil-aminofluorenului, cancerizarea presupune substituirea ADN cu fragmente de 2-AAF la C_8 al guaninei. Există opinia că la formarea aductului, guanina suferă o rotaţie în afara dublului helix, fragmentul de fluoren înserându-se astfel în interiorul helixului. Acest model este în acord cu substituţia perechilor de baze şi deleţia mutanţilor. Aceste substituţii conduc în final la modificări în transcripţia informaţiei genetice.

Donorii de grupe alchil

Dialchil-nitrozaminele, dialchil-hidrazinele, aril-dialchil-triazenele, alchil-nitrozamidele, alchil-nitrozimidele etc. sunt donori de grupe $-CH_3$ şi $-C_2H_5$.

Dialchil-nitrozaminele sunt activate prin oxidarea unei grupe alchil de către sisteme monooxigenazice dependente de citocromul P_{450} din reticulul endoplasmatic al celulelor corespunzătoare (Michejda *et al.*, 1990). Derivaţii monoalchil formaţi se descompun spontan la ionii monoalchil-diazoniu, foarte reactivi.

N-nitrozamidele şi N-nitrozimidele pot fi activate neenzimatic prin reacţia lor cu H_2O sau alte grupări nucleofile ($-SH$, $-NH_2$), conducând la formarea aceloraşi intermediari monoalchil-diazoniu. Se obţin numeroşi complecşi metilaţi ai acizilor nucleici şi proteinelor în ţesuturile ţintă. Metilarea poate avea

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

loc în diferite poziţii nucleofile: O_6 la guanină, N_7 la guanină, N_3 la adenină etc.; N_1 şi N_2 la histidină, S_1 la cisteină etc.

Asemănător cu dialchil-nitrozaminele, 1,2-dialchil-hidrazinele şi aril-dialchil-triazenele sunt convertite în reticulul endoplasmatic de monooxigenaze mixte dependente de citocromul P_{450} tot la agenţi alchilanţi puternici.

Activarea metabolică a aflatoxinelor

Există o legătură între toxicitatea, mutagenitatea şi cancerogenitatea aflatoxinei B_1 şi dubla legătură din inelul furanic terminal. Astfel, aflatoxina B_2, căreia îi lipseşte această dublă legătură, este mult mai puţin activă decât aflatoxina B_1 în experienţele pe animale. În plus, toxicitatea şi mutagenitatea aflatoxinei B_1 pentru *Salmonella typhymurium* este dependentă de adăugarea preparatelor care conţin un sistem enzimatic monooxigenazic dependent de citocromul P_{450}. De aici rezultă că epoxidul aflatoxinei B_1 poate fi metabolitul ultim activ din punct de vedere biologic. S-a izolat 2,3-dihidro-2,3-dihidroxi-aflatoxina B_1 (dihidro-diol) dintr-un hidrolizat acid al aductului ARNr-aflatoxină B_1, format prin oxidarea microzomială a aflatoxinei B_1 în prezenţa ARNr. De asemenea, s-a evidenţiat un derivat similar în ficatul şobolanilor hrăniţi cu aflatoxină B_1 tritiată. Aceste două cercetări sugerează epoxidarea aflatoxinei B_1 *in vivo*, cu formarea 2,3-epoxidului aflatoxinei B_1, cancerigen ultim foarte activ.

Aflatoxina B_2 conferă numai 1% din cantitatea de aducţi cu ARNr şi ADN obţinuţi în cazul administrării aflatoxinei B_1. Pentru ca aflatoxina B_2 să devină activă, trebuie să se transforme enzimatic în aflatoxină B_1, care la rândul ei urmează calea de activare metabolică la 2,3-epoxid. Pe de altă parte, nu s-a reuşit sinteza 2,3-oxidului aflatoxinei B_1, probabil din cauza marii reactivităţi şi instabilităţii acestuia. S-a arătat însă că 2,3-diclorura aflatoxinei B_1, sintetizată ca un model pentru 2,3-oxidul aflatoxinei B_1, manifestă o mare putere cancerigenă şi mutagenă ca atare, fără să necesite o activare metabolică.

Activarea metabolică a hidrocarburilor aromatice policiclice

Se consideră că o hidrocarbură este cancerigenă dacă posedă o „regiune K" cu o densitate mare de electroni. În această regiune din hidrocarbură are loc adiţia electrofilă cu formare de compuşi fenolici.

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

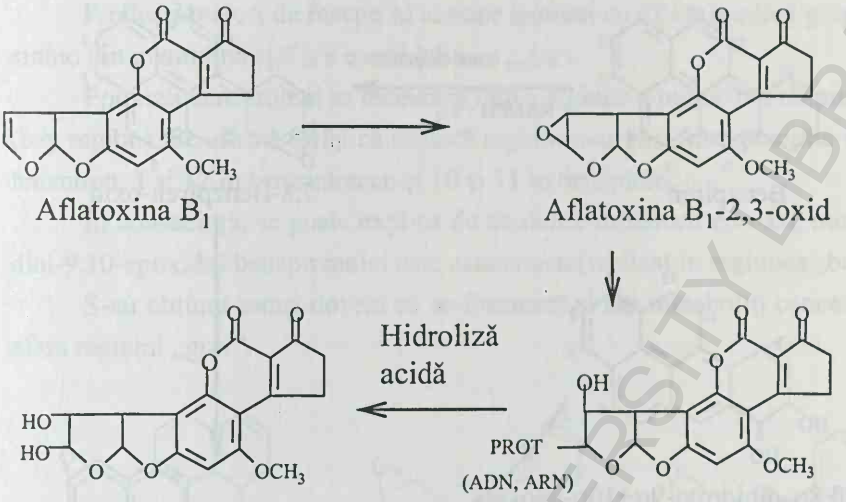


Figura 5. Activarea aflatoxinei B_1 de către monooxigenazele hepatice

Conform teoriei soţilor Pullmann, numai hidrocarburile aromatice policiclice care au în regiunea K o densitate de electroni π mai mare de 1,283 prezintă efecte cancerigene.

Majoritatea substanţelor chimice îşi manifestă acţiunea cancerigenă după metabolizare în organism sub acţiunea unor sisteme enzimatice de oxigenaze mixte la metaboliţi mai reactivi. Aceştia reacţionează cu centrii nucleofili din macromoleculele celulare, ADN, ARN şi proteine. Deoarece hidrocarburile aromatice policiclice sunt o clasă de substanţe relativ inerte, s-a presupus că un grup de metaboliţi mai reactivi ai acestora sunt responsabili de activitatea lor cancerigenă. Plecând de la existenţa unei regiuni foarte reactive (regiunea K) în hidrocarburile aromatice policiclice cancerigene, a fost firesc ca primii epoxizi testaţi pentru acţiunea lor cancerigenă şi mutagenă să fie epoxizii formaţi în regiunea K. Slaba cancerogenitate a multor epoxizi ai regiunii K în benzantracen sau în hidrocarburi înrudite cu acesta n-au confirmat această ipoteză. Totuşi, epoxizii respectivi şi-au dovedit cancerigenitatea în culturi de celule mai mult decât hidrocarburile corespunzătoare.

BCU "ION CREANGĂ" UNIVERSITY LIBRARY

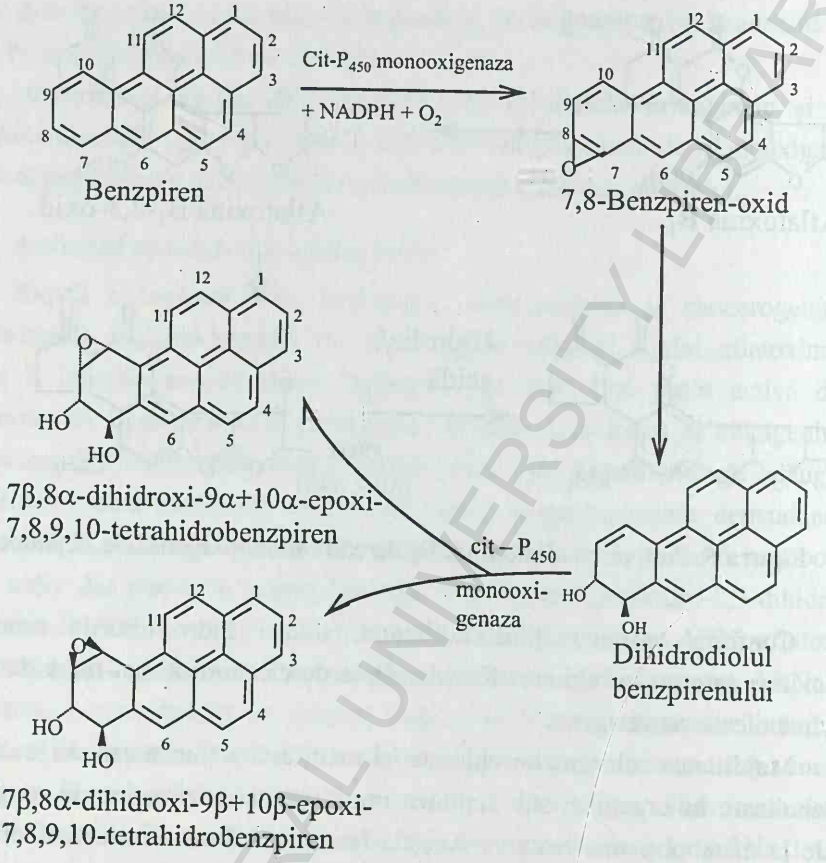


Figura 6. Activarea metabolică a cancerigenului benzpiren

Cancerigenul ultim al benzpirenului este 7-beta-8-alfa-dihidroxi-9-alfa-10-alfa-epoxi-7,8,9,10-tetrahidro-benzpirenul, electrofil, mutagen şi cancerigen.

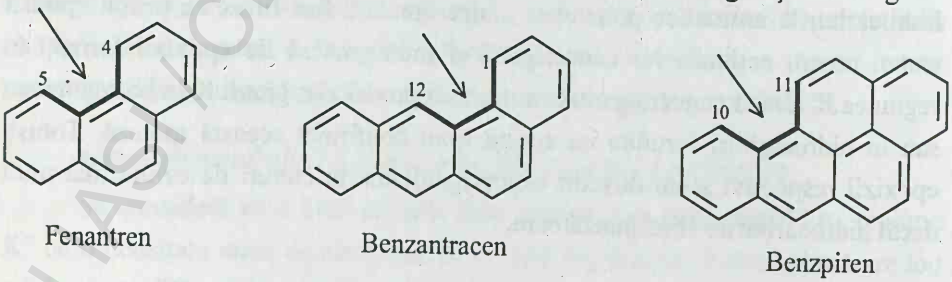


Figura 7. Poziţia „bay region" în fenantren, benzantracen şi benzpiren (Jerina, 1978)

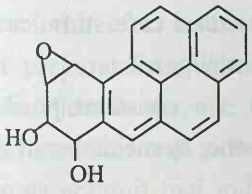
BCU ASE / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Produşii majori de reacţie ai acestor izomeri cu DNA implică gruparea 2-amino din guanidină şi C_{10} a epoxidului.

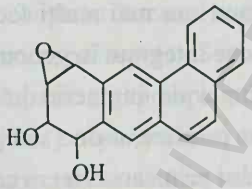
Epoxizii cancerigeni se formează într-o regiune a moleculei numită „golf" (bay region). Se afirmă astfel că această regiune s-ar găsi între poziţiile 4 şi 5 în fenantren, 1 şi 12 în benzantracen şi 10 şi 11 în benzpiren.

În consecinţă, se poate explica de ce dintre următorii epoxizi, numai 7,8-diol-9,10-epoxidul benzpirenului este cancerigen (realizat în regiunea „bay"):

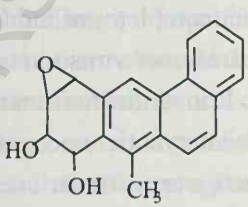
S-au obţinut totuşi dovezi că se formează şi alţi metaboliţi cancerigeni în afara regiunii „golf".



7,8-diol-9,10–epoxidul benzpirenului



8,9-diol–10,11–epoxidul benzantracenului



8,9-diol–10,11–epoxidul 7-metil-benzantracenului

Schema generală a mecanismului cancerogenezei chimice

Mutaţia în ADN constituie etapa primară în iniţierea cancerogenezei de către substanţele chimice cancerigene. Nu poate fi exclusă posibilitatea ca, în unele cazuri, modificări negenetice să constituie evenimente primare în cancerogeneză. Nu s-a demonstrat până acum rolul virusurilor oncogene în iniţierea cancerogenezei prin substanţe chimice. Este, de asemenea, probabil ca o parte dintre reactanţii electrofili să joace rol şi în promovare; numărul mare de aducţi formaţi pentru acelaşi cancerigen atât cu ADN, cât şi cu ARN şi proteine participă atât la iniţierea fenomenului de cancerogeneză cât şi la etapa de promovare a procesului de cancerizare.

Benzpirenul şi alte hidrocarburi aromatice policiclice cancerigene pot acţiona ca un cancerigen complet, adică iniţiază, dar şi promovează cancerogeneza chimică, atunci când se aplică repetat pe pielea animalelor de experienţă; este posibil ca aceşti cancerigeni să inducă anumite efecte asupra membranelor celulare, care sunt similare cu cele induse de forbolesteri,

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

promotori tumorali. S-a confirmat că aceşti compuşi au efecte similare cu cele produse de 12-*o*-tetradecanoilforbol-13-acetat (TPA), inclusiv creşterea turnoverului fosfolipidelor membranei.

S-a demonstrat de asemenea că TPA intensifică transformarea celulelor indusă de virusul polioma, Epstein-Barr, accelerează replicarea şi efectul citopat al unor virusuri oncogene: adenovirusuri, E-B, virusul tumorii mamare de şoarece etc. Totodată, benzpirenul şi metabolitul său mai reactiv, benzpiren-dihidrodiol-9,10-epoxidul, au efecte similare de inducere a replicării virusului polioma, chiar dacă au fost administraţi o singură dată şi în ciuda faptului că aceşti compuşi sunt degradaţi rapid. Aceasta sugerează că astfel de cancerigeni chimici completi pot induce unul sau mai mulţi factori celulari care stimulează replicarea unor virusuri oncogene integrate în genomul celulei gazdă.

Prin utilizarea unor tehnici de inginerie genetică, s-a constatat posibilitatea intervenţiei oncogenelor celulare, c-onc sau proto-onc, în mecanismul de inducere a transformării celulelor prin cancerigeni chimici.

În grupa substanţelor chimice sigur cancerigene au fost incluse clorambucilul şi ciclofosfamida, care erau considerate doar probabil cancerigene. De asemenea, s-au mai introdus şi alte substanţe chimice pe lista substanţelor sigur cancerigene la om: 1) amestecuri analgezice care conţin fenacetină; 2) azatioprina; 3) 1,4-butandioldimetan-sulfonat (Mileran); 4) asociaţii chimioterapice utilizate în tratamentul limfoamelor (Metotrexat, Oncovin, Procarbazină şi Prednison); 5) clorambucilul; 6) ciclofosfamida; 7) estrogeni conjugaţi; 8) treosulfan; 9) metoxalen combinat cu un tratament cu ultraviolete; 10) unele anticoncepţionale orale; 11) industria coloranţilor; 12) industria de piele şi încălţăminte; 13) fabricarea mobilei etc.

Alte substanţe probabil cancerigene la om sunt: 1) dicarbazina; 2) procarbazina; 3) bis-clormetilnitrozourea; 4) 1-(2-cloretil)-3-ciclohexil-1-nitrozourea (Stelljes, 2008).

Toxicitatea şi cancerigenitatea tioacetamidei. Distanţa medie între ADN şi proteine în cromatină este de 50 Å. Sub influenţa tioacetamidei, are loc o creştere a acesteia cu 11,42%, ceea ce indică un proces de intensificare genică, cu efecte carcinogenice evidente. Cromatina devine mai laxă, iar transferul de energie între moleculele celor doi liganzi se face mai greu (Olinescu & Creabu, 1990).

Cancerul gastric este o neoplazie relativ freventă în toate ţările lumii, dar cu variabilitate mare de la o ţară la alta din punct de vedere al ratelor de mortalitate şi morbiditate. Bărbaţii au o rată a cancerului gastric de două ori mai mare decât femeile.

Cancerul gastric este o excepţie sub 30 de ani, dar după 40 de ani frecvenţa sa creşte brusc, pentru a atinge un maxim după vârsta de 60 de ani. Alimentele bogate în hidraţi de carbon au fost incriminate în inducerea cancerului gastric, boala cea mai frecventă la populaţiile mari consumatoare de cereale (japonezii) şi de cartofi (polonezii), fără să se identifice vreun agent cancerigen în dieta bogată în cereale (Chiricuţă şi Bolba, 1984).

Un efect invers a fost constatat în cazul regimului alimentar bogat în lapte şi preparate de lapte şi fructe proaspete. S-a constatat un abuz de băuturi alcoolice la aproape toţi bărbaţii şi aproape jumătate din femeile cu cancer gastric (Chiricuţă şi Bolba, 1984). Apariţia unui cancer pe mucoasa gastrică ar fi suma acţiunii mai multor cancerigeni asupra unui ţesut receptiv, pregătit de o stare patologică câştigată sau determinată genetic. Interesant este şi faptul că o proporţie mare a bolnavilor cu cancer gastric aparţin grupei de sânge A.

Nitrozaminele cancerigene au fost găsite în sucul gastric al fumătorilor de ţigarete, ca urmare a transformării cianatului, conţinut în produsele tabagice, dizolvat în salivă şi care pe această cale ajunge în stomac (Chiricuţă, Bara, Bolba, 1978).

S-a observat legătura dintre o expunere îndelungată la benzen în condiţii profesionale şi apariţia leucemiilor (Chiricuţă, Bara, Bolba, 1978). Dintre medicamente, acelaşi efect prezintă şi cloramfenicolul.

Bibliografie

Butler, W.H., *Aflatoxin*, in *Mycotoxin (IFH Purchase)*, Elsevier Science Publications, Amsterdam / Oxford / New York, 1974.

Chiricuţă, I., *Cancerologie*, I-II, Editura Medicală, Bucureşti, 1982-1988.

Chiricuţă, I. (coord.), *Cancerologie*, I, Editura Medicală, Bucureşti, 1984.

Einhorn, N., *Acute Leukemia after Chemotherapy (Melphalan)*, în *Cancer*, 41, 1978, p. 4447.

Fodde, R., Smits, R., *Cancer Biology. A Matter of Dosage*, în *Science*, 298, 2002, p. 761-763.

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Jaffe, L.F., *Epigenetic Theories of Cancer Initiation*, în *Adv Cancer Res*, 90, 2003, p. 209-230.

Kadlubar, F.F., Miller, J.A., Miller, E.C., *Hepatic Microsomal N-glucuronidation and Nucleic Acid Binding of N-hydroxy Arylamines in Relation to Urinary Bladder Carcinogenesis*, în *Cancer Res*, 37, 1977, p. 805-814.

Kadlubar, F.F., Unruh, L.E., Flammang, T.J., Sparks, D., Mitchum, R.K., Mulder, G.J., *Alteration of Urinary Levels of the Carcinogen, N-hydroxy-2-naphthylamine, and Its N-glucuronide in the Rat by Control of Urinary pH, Inhibition of Metabolic Sulfation, and Changes in Biliary Excretion*, în *Chem Biol Interact*, 33, 1981, p. 129-147.

King, C.M., Olive, C.W., *Comparative Effects of Strain, Species, and Sex on the Acyltransferase- and Sulfotransferase-catalyzed Activations of N-hydroxy-N-2-fluorenylacetamide*, în *Cancer Res*, 35, 1975, p. 906-912.

Lancaster, M.C., Jenkins, F.P., Philp, J.M., *Toxicity Associated with Certain Samples of Ground-nuts*, în *Nature*, 192, 1961, p. 1095-1096.

López-Lázaro, M., *A New View of Carcinogenesis and an Alternative Approach to Cancer Therapy*, în *Mol Med*, 16, 2010, p. 144-153.

Merlo, L.M., Pepper, J.W., Reid, B.J., Maley, C.C., *Cancer as an Evolutionary and Ecological Process*, în *Nat Rev Cancer*, 6, 2006, p. 924-935.

Michejda, J., Guo, X.J., Lauquin, G.J., *The Respiration of Cells and Mitochondria of Porin Deficient Yeast Mutants is Coupled*, în *Biochem Biophys Res Commun*, 171, 1990, p. 354-361.

Olinescu, R., Creabu, M., *Mecanisme de apărare a organismului împotriva poluării chimice*, Editura Tehnică, Bucureşti, 1990.

Pitot, H.C., Barsness, L., Goldsworthy, T., Kitagawa, T., *Biochemical Characterisation of Stages of Hepatocarcinogenesis after a Single Dose of Diethylnitrosamine*, în *Nature*, 271, 1978, 456-458.

Stelljes, M.E., *Toxicology for Nontoxicologists*, The Scarecrow Press, Inc., Lanham, Maryland / Toronto / Plymouth, UK, 2008.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

7. Toxicologia medicamentelor

Intensitatea efectelor toxice ale medicamentelor depinde în general de concentraţia acestora în organism şi de locul lor de acţiune. Excreţia, în special prin rinichi, este o modalitate de epurare, valabilă pentru multe medicamente. Aceasta se referă în general moleculele purtătoare de sarcini electrice depline sau parţiale, care nu sunt liposolubile.

Medicamentele, cu excepţia celor macromoleculare sau care sunt legate de proteinele plasmatice, sunt filtrate glomerular. Moleculele liposolubile se absorb tubular, rămânând în organism, cele neliposolubile sunt reţinute în urină şi se elimină. Unele medicamente fac de asemenea obiectul secreţiei tubulare, care implică mecanisme transportoare specifice.

Medicamentele care sunt eliminate total sau în mare parte prin excreţie renală, cum ar fi antibioticele aminoglicozidice de felul gentamicinei, majoritatea curarizantelor, digoxina etc., trebuie administrate în doze mici sau nu se administrează în insuficienţa renală.

Eliminarea renală poate fi determinată de interacţiuni specifice. Astfel, alcalinizarea urinei prin bicarbonat de sodiu creşte proporţia formei ionizate de salicilaţi (care au molecula acidă) în urină; aceasta micşorează reabsorbţia tubulară, mărind eliminarea renală, fenomen util în intoxicaţia acută cu acid acetilsalicilic. Un alt exemplu este probenecidul, un medicament cu molecula acidă, care intră în competiţie cu benzilpenicilina, de asemenea cu molecula acidă, pentru transportul specific ce intervine în secreţia tubulară; de aceea probenecidul scade eliminarea urinară a penicilinei şi poate fi utilizat pentru creşterea nivelului plasmatic de antibiotic.

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Parametrii farmacocinetici ai medicamentelor

Concentraţia plasmatică este un parametru global, fiind o rezultantă a tuturor etapelor circulaţiei în organism. *Biodisponibilitatea* defineşte absorbţia la care se pot adăuga alte fenomene, ce intervin eventual între absorbţie şi ajungerea în circulaţie. Distribuţia în organism se măsoară prin *volumulaparent de distribuţie.* Indicele care măsoară procesul de epurare-metabolizare, excreţia, este *clearance-ul. Timpul de înjumătăţire* este un parametru complex, care rezultă din distribuţie şi epurare.

Biodisponibilitatea. Biodisponibilitatea măsoară proporţia din medicamentul administrat care ajunge în sânge, respectiv este disponibilă pentru acţiune şi se referă, de regulă, la biodisponibilitatea după administrarea orală.

Biodisponibilitatea se calculează astfel:

$Bd\% = C_{po}/C_{piv} \times 100$ sau $F = C_{po}/C_{piv}$

în care Bd% reprezintă biodisponibilitatea procentuală, F fracţia disponibilă, C_{po} şi C_{piv} concentraţia plasmatică după administrare orală, respectivintravenoasă.

Biodisponibilitatea se măsoară în cadrul studiilor farmacocinetice ale medicamentelor noi, pentru analiza posibilităţii administrării orale şi a raportului între doza orală şi doza parenterală.

Valorile mici ale biodisponibilităţii orale îndică absorbţia incompletă şi/ sau inactivarea la prima trecere prin ficat.

Distribuţia medicamentelor poate fi diferită în funcţie de acumularea anumitor medicamente în diferite ţesuturi, de exemplu muşchi, ţesut adipos. Digoxina de exemplu are un volum de distribuţie de circa 500 l.

Clearance-ul medicamentelor. Clearance-ul este un parametru farmacocinetic primar, care arată viteza de epurare relativ la concentraţia medicamentelor în lichidele biologice. Clearance-ul se exprimă obişnuit relativ la plasmă-*clearance plasmatic* (Cl_p), care reprezintă volumul de plasmă epurat de medicament pe unitatea de timp.

$Cl_p = V/C_c$

în care V notează viteza de introducere a medicamentului în perfuzie intravenoasă, iar C_c - concentraţia plasmatică constantă.

Clearance-ul plasmatic exprimă *clearance-ul sistemic* sau *total* (Cl_t). Acesta reuneşte componenta hepatică a epurării (Cl_h), componenta renală (Cl_r) şi pe aceea datorită altor organe (Cl_{al}):

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

$Cl_t = Cl_h + Cl_r + Cl_{al}$

Timpul de înjumătăţire este timpul necesar scăderii la jumătate a concentraţiei de medicament din plasmă. Acest parametru depinde la început mai ales de distribuţia unui medicament, apoi predominant de epurarea sa. Pentru majoritatea medicamentelor, el se exprimă prin relaţia:

$T_{1/2} = 0{,}693 \times V_d/Cl_p$

în care 0,693 este logaritmul natural de 2.

Efectele medicamentelor se datorează interacţiunii acestora cu materia vie. Majoritatea acţionează *specific* asupra unor anumite structuri macromoleculare prezente în cantitate mică în ţesuturile ţintă. Ca urmare, sunt declanşate fenomene secvenţionale multiple, reacţii şi contrareacţii, care se manifestă la nivelul celulelor, ţesuturilor, sistemelor, organelor şi, în final, la nivelul întregului organism.

Acţiunea medicamentelor la nivel molecular şi celular. Acţiunea primară a medicamentelor se manifestă asupra moleculelor şi reprezintă *mecanismul de acţiune.*

Farmacoreceptorii sunt macromolecule proteice capabile să lege specific substanţele active cu molecule caracterizate de mase moleculare mici, formând cu acestea complexe, care comandă anumite efecte biologice. Multe medicamente folosesc drept receptori unele macromolecule, care în mod obişnuit sunt acţionate specific de molecule fiziologice, neurotransmiţătorii autacoizi, hormonii şi alţi compuşi activi proprii organismului.

Receptorii recunosc specific semnalul chimic reprezentat de anumite molecule, datorită existenţei la suprafaţa macromoleculei a unui *sediu de legare* complementar chimic, electric şi/sau ca organizare spaţială cu molecula medicamentoasă (sau endogenă). Capacitatea de a se fixa specific de anumiţi receptori este denumită *afinitate*. Formarea *complexului medicament-receptor* se realizează prin stabilirea unor legături între molecula de medicament şi sediul de legare. Legăturile sunt de regulă labile şi constau în legături ionice, punţi de hidrogen, forţe van der Waals. Medicamentul se leagă şi se desprinde de pe receptori cu repeziciune şi de repetate ori. Uneori legarea este stabilă şi puternică (legături covalente) ceea ce determină un efect prelungit, deseori cu caracter toxic.

BCU IAŞI - CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

În cazul substanţelor denumite *agoniste*, formarea complexului medicament-receptor declanşează fenomene fizico-chimice şi/sau biochimice, cu repercusiuni funcţionale. În acest caz medicamentul are, pe lângă afinitate, *activitate intrinsecă*. Probabil, iniţial apar *modificări conformaţionale* ale macromoleculei receptoare, care determină, direct sau indirect, modificări ale permeabilităţii membranare, modificări de activitate enzimatică, modificări ale unor mecanisme transportoare.

Cuplul medicament-receptor iniţiază intrarea în funcţie a unor *mecanisme amplificatoare*, reacţii enzimatice secvenţiale în cascadă, acţiuni progresiv mai ample sau mai îndelungate pentru fiecare treaptă, transformări de energie.

Medicamentele *antagoniste* au afinitate, dar fixarea de receptori este imperfectă şi nu poate declanşa fenomenele responsabile de activitatea biologică. Asemenea substanţe sunt denumite antagoniste deoarece împiedică fixarea de receptori, respectiv acţiunea substanţelor agoniste. Antagonismul are obişnuit caracter *competitiv*, cele două categorii de substanţe, agoniste şi antagoniste, intrând în competiţie pentru sediul de legare de pe macromolecula receptoare.

In principiu, receptorii pot fi încadraţi în patru familii în funcţie de organizarea lor structurală şi de sistemele cu care sunt conectaţi. Receptorii pot fi situaţi în membrana celulară sau intracelular. *Receptorii membranari* sunt proteine integrale înglobate în membrana celulară, cu o extremitate care proeminează în exterior şi alta în interior. *Receptorii intracelulari* sunt proteine specifice situate în citoplasmă şi în cromatina nucleară.

O categorie de receptori este reprezentată de *receptorii-canal ionic*. Aceştia sunt formaţi dintr-o proteină, care include sau mărgineşte un canal membranar ionic, astfel receptorii colinergici nicotinici includ un canal pentru ionii de sodiu şi potasiu, iar receptorii $GABA_A$ includ un canal pentru ionii de clor. Acţionarea unor asemenea structuri macromoleculare determină deschiderea (sau închiderea) canalului respectiv, cu modificarea încărcării electrice membranare, respectiv depolarizare şi fenomene de excitaţie sau hiperpolarizare şi inhibiţie.

O a doua categorie de receptori membranari sunt *receptorii-enzime*. Ei constau în proteine transmembranare, care au un sediu de legare pe suprafaţa extracelulară şi activitatea enzimatică în porţiunea dinspre interiorul celulei.

Acţiunea asupra acestor receptori determină modificarea directă a activităţii enzimatice corespunzătoare, cu consecinţe metabolice şi funcţionale. Insulina şi anumiţi factori trofici, de pildă, activează receptori cu funcţie protein-kinazică.

A treia categorie de receptori membranari, mai complecşi, sunt *receptoriicuplaţi cu proteine G sau receptorii în serpentină.* Ei cuprind o proteină prevăzută cu un sediu de legare, cuplată cu o altă proteină denumită proteină G şi, prin aceasta, cu o enzimă membranară importantă. Prima proteină, cu funcţie *receptoare* propriu-zisă şi traversează de şapte ori membrana celulară; agonistul se fixează pe suprafaţa externă. Modificarea conformaţională, care urmează activării proteinei receptoare, se transmite la o *proteină G*, a cărei funcţie este dependentă de GTP. Au fost descrise câteva tipuri de proteină G, notate cu diferite litere mici: Gs, Gi (s şi i de la stimulant, respectiv inhibitor), Gq, Go. Proteina G este cuplată pozitiv (stimulator) sau negativ (inhibitor) cu o anumită *enzimă membranară* capabilă să pună în funcţie metaboliţi majori pentru economia metabolică celulară denumiţi *mesageri secunzi* (mesagerii primi ai informaţiei sunt reprezentaţi de moleculele care acţionează receptorii).

Principalele enzime membranare, care pun în funcţie mesageri secunzi, sunt adenilat ciclaza şi fosfolipaza C. *Adenilat ciclaza* catalizează transformarea ATP în AMP_c (adenozin monofosfat ciclic). *Adenilatul ciclic*, un mesager secund, activează protein kinaze specifice, cu declanşarea unor procese de fosforilare şi activare enzimatică secvenţială. *Fosfolipaza C* este o enzimă membranară care desface, din fosfatidilinozitol, *inozitol trifosfat* (ITP) şi *diacil gliceroli* (DAG). Aceşti metaboliţi reprezintă un sistem mesager secund. ITP stimulează eliberarea de *ionide calciu* din depozitele celulare; calciul cuplat cu calmodulina (o proteină specifică) activează anumite protein kinaze, cu fosforilări în lanţ consecutive. DAG împreună cu ionii de calciu activează protein kinaza C, o altă enzimă fosforilantă. Catecolaminele, acetilcolina, serotonina, opioizii îşi datorează parte din efectele modificării sistemelor mesagere secunde reprezentate de adenilatul ciclic şi de ITP – DAG/ Ca^{2+}, ca urmare a activării anumitor receptori specifici.

Receptorii aparţinând unei a patra categorii, au o componentă citoplasmatică şi o alta la nivelul cromatinei nucleare, de unde denumirea de *receptori nucleari.* Moleculele care acţionează la nivelul acestor receptori (steroizi hormonali, vitamina D, hormoni tiroidieni) sunt solubile în grăsimi şi

BCU "IOAN SLAVICI" TIMIŞOARA LIBRARY

pătrund cu uşurinţă în celulele ţintă. Ajunse în citoplasmă se fixează de o macromoleculă receptoare complexă. Prin pierderea consecutivă a unor proteine asociate acestei macromolecule se formează un complex activ, care ajunge în nucleu unde se fixează de ADN la nivelul unui situs specific. Ca urmare, sunt reglate pozitiv sau negativ anumite gene alăturate, receptorii nucleari având funcţie de *factori de trascripţie*. Modificarea sintezei unor proteine enzimatice sau de altă natură este responsabilă de efectul final.

Acţiunea medicamentelor asupra canalelor membranare. Canalele membranare sunt pori apoşi incluşi în proteine membranare sau mărginiţi cu acestea. Canalele permit trecerea prin difuziune controlată a ionilor de sodiu, calciu, potasiu, clor, conform gradientului de concentraţie. De asemenea, pot fi traversate de anumite molecule hidrosolubile de dimensiuni mici. Trecerea pasivă a ionilor de sodiu şi a celor de calciu determină depolarizarea, respectiv generează potenţialul post-sinaptic excitator şi potenţialul de acţiune, cu excitaţie consecutivă. Efluxul ionilor de potasiu şi influxul ionilor de clor determină hiperpolarizarea, respectiv potenţialul postsinaptic inhibitor.

Diferiţi compuşi endogeni, medicamente, toxice, acţionează asupra canalelor membranare, astfel, acetil colina deschide canalele pentru ionii de Na^+ şi K^+ de la nivelul plăcii motorii, ca urmare a acţionării receptorilor colinergici nicotinici; consecutiv, este stimulată musculatura striată. GABA acţionează receptorii $GABA_A$ şi deschide canalele pentru ionii de Cl^- la nivelul unor neuroni din SNC, cu inhibiţie consecutivă; benzodiazepinele favorizează acest fenomen, ceea ce explică efectul tranchilizant. Blocantele canalelor calciului îşi datoresc efectele farmacologice blocării canalelor calciului de tip L (voltaj-dependente). Unele antiepileptice, unele antiaritmice, amiloridul (un diuretic) blochează canale ale sodiului.

Mecanismele transportoare specifice sunt o altă modalitate, care asigură trecerea prin membrane a ionilor şi altor molecule. Din această categorie fac parte *pompele ionice*, care funcţionează specific pentru anumiţi ioni, transportându-i cu consum de energie împotriva gradientului de concentraţie. Pompa de sodiu / potasiu şi pompa de calciu sunt ATP-aze specifice sensibile la ionii respectivi, care menţin concentraţia fiziologică a acestora. Glicozidele cardiace, de pildă modifică funcţia pompelor ionice la nivelul miocardului. Pompa protonică asigură secreţia ionilor de hidrogen de către celulele parietale

BCU IAŞI CENTRUL UNIVERSITAR LIBRARY

din mucoasa gastrică, respectiv formarea acidului clorhidric. Omeprazolul blochează această pompă şi împiedică secreţia acidă.

Acţiunile medicamentelor la nivelul organitelor celulare. Glucocorticoizii, steroizii sexuali, vitamina D acţionează asupra unor receptori nucleari, funcţionând ca factori de transcripţie. Unele anticanceroase îşi datorează citotoxicitatea afectării directe a ADN-ului sau împiedicării sintezei *de novo* a acestuia.

Ribozomii, sediul sintezei proteice, pot suferi influenţe medicamentoase. Astfel, anumite antibiotice interferează funcţia ribozomilor bacterieni.

Formaţiunile veziculare sau granulare de depozit din anumite celule (cele din terminaţiile presinaptice, care conţin neurotransmiţători, cele din mastocit, macrofage, bazofile, care conţin anumite autacoide) pot fi influenţate medicamentos. Astfel, efedrina şi amfetamina eliberează noradrenalina din terminaţiile adrenergice, având efecte simpatomimetice, guanetidina împiedică eliberarea noradrenalinei, provocând bloc presinaptic, toxina botulinică paralizează terminaţiile colinergice, deoarece împiedică eliberarea acetilcolinei. Cromoglicatul disodic şi ketotifenul împiedică degranularea mastocitelor, cu consecinţe antialergice.

Pe de altă parte, medicamentele îşi pot datora efectul modificării controlului nervos, umoral sau hormonal al funcţiei structurii efectoare. Sinapsele sunt deosebit de sensibile la influenţe chimice, datorită existenţei *neurotransmiţătorilor*. Toate etapele dispoziţiei biochimice şi fiziologice a neurotransmiţătorilor sunt susceptibile la influenţe medicamentoase: sinteza neurotransmiţătorilor, depozitarea acestora în *formaţiuni veziculare* sau *granulare presinaptice*, *eliberarea în fanta sinaptică* de către impulsul nervos, acţionarea receptorilor specifici situaţi îndeosebi postsinaptic, inactivarea neurotransmiţătorilor prin metabolizare şi/sau captare tisulară. Acţiunile medicamentoase sunt specifice, în funcţie de neurotransmiţătorii respectivi. Astfel, L-DOPA favorizează sinteza dopaminei în sistemul nervos central, ceea ce este avantajos în Parkinson, boală caracterizată prin deficit de dopamină în anumite formaţiuni din creier. Medicamente stimulante ale terminaţiilor adrenergice, de felul efedrinei, eliberează noradrenalina, după cum guanetidina împiedică eliberarea acestui neurotransmiţător; consecutiv prima creşte presiunea arterială, pe când cea de a doua o scade. Multe medicamente acţionează sau blochează

BCU "CAROL I" CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

receptori specifici ai neurotransmiţătorilor. De exemplu, pilocarpina şi alte parasimpatomimetice stimulează receptorii colinergici muscarinici, iar atropina şi celelalte parasimpatolitice îi blochează. Salbutamolul este un stimulant $beta_2$-adrenergic, pe când propanololul blochează receptorii beta-adrenergici. Suxametoniul este un curarizant agonist la nivelul receptorilor colinergici nicotinici de pe placa motorie, iar tubocurarina blochează aceşti receptori. Neurolepticele îşi datorează efectele asupra SNC datorită blocării unor receptori ai dopaminei sau ai serotoninei în creier. Benzodiazepinele au proprietăţi tranchilizante ca urmare a facilitării acţiunii GABA asupra receptorilor $GABA_A$. Unele antidepresive acţionează prin împiedicarea recaptării noradrenalinei şi serotoninei în anumite sinapse din creier, după cum alte antidepresive acţionează prin blocarea MAO, respectiv împiedicarea inactivării metabolice a acestor neurotransmiţători în sinapsele centrale.

Acţiunile la nivelul sistemelor autacoizilor. În categoria autacoizilor pot fi încadrate: *histamina, serotonina, bradikinina, angiotensina II, prostaglandinele, leucotrienele, oxidul nitric şi endotelina.* O parte din autacoizi au de asemenea funcţie de neurotransmiţători, unii au, pe lângă acţiunile locale şi unele la distanţă. O categorie de medicamente au acţiuni asemănătoare celor produse de autacoizi sau acţionează antagonist. Câteva exemple sunt: antihistaminicele antialergice şi cele inhibitoare ale secreţiei gastrice, inhibitorii enzimei de conversie, care împiedică formarea angiotensinei II, având efect antihipertensiv, unele prostaglandine şi analogi ai acestora folosiţi ca antiulceroase, vasodilatatoare. Antiinflamatoarele nesteroidiene îşi datorează în mare parte efectele terapeutice, dar şi reacţiile adverse, împiedicării sintezei prostaglandinelor.

Acţiunile medicamentelor şi hormonii. Hormonii sunt substanţe endogene secretate de glandele endocrine, care acţionează la distanţă, reglând funcţiile anumitor celule şi contribuind la integrarea lor în complexul organismului întreg. Efectele hormonilor se datorează acţiunii acestora asupra unor receptori specifici la nivelul celulelor ţintă. Insulina, de exemplu, acţionează asupra unor receptori-enzime cu funcţie proteinkinazică, adrenalina acţionează asupra unor receptori cuplaţi cu proteinele G, glucocorticoizii şi steroizii sexuali acţionează pe receptori nucleari, funcţionând ca factori de transcripţie.

Hormonii sunt folosiţi ca *medicaţie de substituţie*, de exemplu insulina în diabet sau levotiroxina în insuficienţa tiroidiană. Anumiţi hormoni au *proprietăţi*

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

farmacologice distincte, care pot fi utile terapeutic, cum ar fi glucocorticoizii cu acţiune antiinflamatoare intensă.

Acţiunile medicamentelor asupra aparatelor efectoare. Funcţia aparatelor efectoare poate fi influenţată de medicamente prin modificarea contolului vegetativ şi umoral-hormonal al acestora şi prin acţiune directă asupra celulelor componente cum, ar fi celulele musculare şi cele glandulare.

Bronhodilataţia, de exemplu, care este utilă la astmatici, poate fi produsă prin stimulante beta$_2$-adrenergice, prin anticolinergice, ca şi prin bronhodilatatoare musculotrope de felul teofilinei. Secreţia gastrică de acid clorhidric poate fi inhibată prin antihistaminice blocante ale receptorilor protonilor, prin anticolinergice şi prin omeprazol, care acţionează direct asupra celulelor parietale, blocând pompa protonică responsabilă de secreţia ionilor de hidrogen.

Factorii fiziologici, fiziopatologici şi medicamentoşi. Greutatea şi dimensiunea corporală sunt factori care influenţează concentraţia medicamentului sau a otrăvii la locul de acţiune.

Vârsta exercită influenţe de ordin cantitativ, legate de diferenţe în greutatea corporală, care sunt relevante la copii. Intervin, de asemenea, influenţe calitative, determinate îndeosebi de procesele de epurare a medicamentelor, în parte deficitare la copii mici şi la vârstnici. Reactivitatea este diferită la copii şi la bătrâni la diverse medicamente.

Starea funcţională. În general, cu cât un sistem sau organ funcţionează mai intens, cu atât efectul substanţelor care îl deprimă este mai puternic, iar relaxantele musculare sunt mai active când muşchii sunt spastici.

Stările patologice condiţionează uneori efectul medicamentelor. De exemplu, tonicele cardiace cresc debitul cardiac şi realizează compensarea în condiţii de insuficienţă cardiacă, diureticele sunt mai active în prezenţa edemelor, antiaritmicele îşi pot exercita acţiunea numai în prezenţa aritmiilor.

Farmacotoxicologia

Farmacotoxicologia are drept obiect studiul efectelor dăunătoare ale medicamentelor. De regulă, *supradozarea* medicamentelor produce intoxicaţii acute sau cronice. Toxicitatea este evaluată experimental şi cuantificată prin

stabilirea dozei care intoxică sau ucide 50% din animalele testate, definind astfel DT_{50}, respectiv DL_{50}.

Intoxicaţiile acute medicamentoase ocupă un loc important în patologia umană. Printre medicamentele incriminate curent în asemenea intoxicaţii sunt benzodiazepinele, barbituricele, antidepresivele, neurolepticele şi îndeosebi, diverse asociaţii medicamentoase, incluzând deprimante ale sistemului nervos central.

Tratamentul intoxicaţiilor acute constă în *măsuri nespecifice*, care urmăresc, pe de o parte micşorarea cantităţii toxice din organism, pe de alta tratamentul simptomatic şi susţinerea funcţiilor vitale. Pentru îndepărtarea toxicului, după caz, se fac spălături, se provoacă vomă, se administrează purgative şi/sau diuretice, la nevoie se face dializa. Tratamentul simptomatic se adresează unor manifestări supărătoare sau dăunătoare, stare de excitaţie, convulsii, sedare excesivă mergând până la comă, vomă, colici, diaree. *Susţinerea funcţiilor vitale, mai ales respiraţia* şi *circulaţia, presupune de regulă* îngrijirea intensivă într-un serviciu de reanimare. În unele cazuri este posibil şi necesar *tratamentul specific antidotic.* Antidoturile sunt substanţe capabile să combată în mod electiv fenomenele toxice produse de anumite medicamente. Ele acţionează fie prin mecanism farmacologic, acţiuni contrarii la nivelul unor sisteme fiziologice sau antagonism competitiv la nivelul unor receptori specifici, fie prin mecanisme chimice, de exemplu inactivarea unor metale toxice prin chelatare. Dintre antidoturile mai cunoscute sunt: nalorfina în intoxicaţia cu morfina şi alte opioide, atropina şi obidoxima în intoxicaţia cu anticolinesterazice, fitomenadiona în intoxicaţia cu anticoagulante cumarinice.

Intoxicaţiile cronice apar în condiţiile administrării repetate de doze mari şi se datorează acumulării de cantităţi toxice de medicament.

Reacţiile adverse la medicamente se definesc ca fenomene nocive, care apar la dozele uzuale de medicament. Bătrânii, copiii, femeile însărcinate prezintă un risc foarte mare. Principalele simptome se situează, în ordinea descrescândă a frecvenţei, la nivelul pielii, tubului digestiv, sistemului nervos central, sângelui aparatului circulator. După mecanismul lor, reacţiile adverse pot fi de tip toxic, de tip idiosincrazic şi de tip alergic. Un loc aparte îl ocupă dependenţa.

Reacţiile adverse de tip toxic. Reacţiile adverse de tip toxic sunt dependente de doză, apar în condiţii de supradozare relativă, iar frecvenţa şi intensitatea lor creşte cu doza.

Factorii care fac ca dozele uzuale să provoace fenomene toxice ţin de bolnav şi de produsul farmaceutic. Dintre factorii dependenţi de bolnavi se pot enumera:

- reactivitatea biologică individuală;
- insuficienţa organelor responsabile de epurare (ficat, rinichi) care grefează procesul de inactivare metabolică şi/sau eliminare a unor medicamente;
- anumite stări patologice de organ sau metabolice, care cresc reactivitatea; exemple sunt miocardul bolnav sau hipokaliemia, care favorizează aritmiile.

Alţi factori favorizanţi ai reacţiilor adverse de tip toxic depind de medicament:

- indicele terapeutic mic, respectiv distanţa mică între zona terapeutică şi cea toxică, de exemplu în cazul citostaticelor anticanceroase, antibioticelor aminoglicozidice, digoxinei, adrenalinei;
- biodisponibilitatea variabilă a unor produse farmaceutice, care semnifică inechivalenţa terapeutică, respectiv posibilitatea eficacităţii slabe, dar şi riscul crescut de reacţii adverse toxice pentru dozele uzuale; preparate de digoxină sau fenitoină de exemplu se pot comporta în acest fel;
- folosirea nejustificată a unor căi de administrare cu risc toxic mare, de exemplu injecţiile, îndeosebi cele intravenoase; este cunoscut riscul mare al injecţiilor intravenoase de adrenalină sau aminofilină;
- schemele de administrare inadecvate, care pot favoriza reacţii adverse de tip toxic mai ales în cazul medicamentelor cu potenţial cumulativ mare, de exemplu digitalicele;
- anumite interacţiuni medicamentoase sunt semnificative prin riscul mare al reacţiilor adverse de tip toxic; exemple sunt asociaţia halotan-adrenalină (risc de aritmii severe), asociaţia anticoagulante cumarinice-acid acetilsalicilic (risc de accidente hemoragice), asociaţia antiinflamatorii nesteroidiene-glucocorticoizi (risc crescut de lezare a mucoasei gastrice, mergând până la ulcer), asociaţia tranchilizante-băuturi alcoolice (risc de sedare excesivă).

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Tipuri particulare de reacţii adverse toxice sunt efectele dismorfogene sau teratogene, efectele mutagene şi efectele cancerigene.

Efectele dismorfogene se manifestă prin defecte morfologice la copii, în cazul administrării medicamentelor la femeile însărcinate. Când defectele sunt majore, având caracter de monstruozitate, efectul se numeşte *teratogen*. Dintre medicamentele cu risc cert sunt citostaticele anticanceroase, unele antiepileptice (mai ales fenitoina şi trimetadiona), sărurile de litiu, anticoagulantele cumarinice, anumiţi derivaţi de vitamină A, îndeosebi izotretinoina, hormonii sexuali androgeni şi progestativele cu proprietăţi androgenice (care pot provoca masculinizarea fătului feminin). Vârsta sarcinii este un alt factor major pentru riscul dismorfogen. Sensibilitatea este maximă în primul trimestru de sarcină, mai ales între zilele 20 şi 40, când organogeneza şi determinanţii ei chimici sunt la apogeu.

Efectele mutagene au drept consecinţă modificări permanente ale fenotipului, care ulterior, chiar după mai multe generaţii, pot determina afectarea fenotipului manifestată prin diferite boli genetice. Exemple de medicamente cu risc mutagen cert sunt: citostaticele anticanceroase şi imunodepresive, unele antiepileptice, unele neuroleptice, metronidazolul, pesticidele organofosforice.

Reacţiile adverse idiosincrazice. Reacţiile adverse idiosincrazice sunt independente de doză. Ele diferă calitativ de efectele uzuale ale medicamentelor sau apar la doze obişnuit lipsite de nocivitate. Reacţiile idiosincrazice se datorează fie modificării unor procese de biotransformare a medicamentelor, fie unei reactivităţi tisulare neobişnuite. Determinismul este genetic şi se referă la modificări ale sintezei unor proteine specifice, de regulă proteine enzimatice.

Un exemplu de reacţie idiosincrazică datorită unei *anomalii de metabolizare* este apneea de tip toxic, care se produce la doze mici de suxametoniu, un ester al colinei cu proprietăţi curarizante. Proporţia în populaţie a persoanelor cu asemenea reactivitate este de circa 0,25‰. Fenomenul se explică prin existenţa unei colinesteraze plasmatice atipice cu capacitate redusă de a hidroliza şi inactiva curarizantul.

Un alt exemplu de tulburare idiosincrazică datorată unei *reactivităţi tisulare neobişnuite* este hemoliza, pe care o provoacă la unele persoane dozele obişnuite de primachină, chinină, acid nalidixic, fenacetina şi alte câteva medicamente.

Reacţiile adverse alergice ale medicamentelor, independente de doză, pot apărea la doze foarte mici, deoarece presupun o sensibilizare prealabilă. Frecvenţa generală a reacţiilor alergice la medicamente se situează în jur de 10%.

Sensibilizarea alergică se dezvoltă de obicei după 5-14 zile de la prima administrare, uneori mai mult în cazul tratamentului continuu. Alergia este specifică la o anumită substanţă, dar poate cuprinde şi compuşi înrudiţi structural, reacţiile sunt de exemplu comune pentru toate penicilinele. Pentru dezvoltarea alergiei este necesar ca medicamentul să formeze conjugaţi prin legarea covalentă de o polipeptidă sau proteină din organism. Uneori determinantul antigenic este un metabolit al medicamentului, de exemplu derivaţi peniciloil pentru peniciline.

Organismul, o dată sensibilizat, este capabil să răspundă prin simptome tipice de alergie la cantităţi foarte mici de antigen. Există patru tipuri de reacţii alergice, care diferă prin mecanism şi prin manifestările clinice.

Reacţiile alergice de tip anafilactic (tip I) sunt reacţii de cuplarea antigenului cu IgE, care acoperă suprafaţa mastocitelor sau a leucocitelor bazofile. Consecutiv sunt eliberaţi din aceste celule anumiţi autacoizi, printre care histamina, prostaglandine, leucotriene, responsabile de efectul alergic. Fenomenele alergice de acest tip au verigi comune cu inflamaţia. Ele se manifestă prin vasodilataţie, eventual hipotensiune, permeabilizare capilară, edeme, bronhospasm. Simptomele caracteristice se încadrează în câteva entităţi clinice: urticarie, edem angioneurotic, rinită seroasă, astm bronşic; sindromul cel mai acut şi spectaculos este şocul anafilactic, care poate fi letal. Penicilinele şi acidul acetilsalicilic sunt exemple de medicamente cu risc mare de reacţii alergice anafilactice.

Reacţiile alergice de tip citotoxic (tip II) se datorează formării de anticorpi IgG şi IgM direcţionaţi specific asupra unor celule purtătoare ale haptenei medicamentoase. Aşa se explică anemiile hemolitice sau trombocitopeniile imune produse de chinină, chinidină, sulfamide, ca şi granulocitopenia la derivaţii pirazolici de felul aminofenazonei sau la tioamidele antitiroidiene. O categorie particulară a alergiei de tip II sunt *reacţiile citotoxice autoimune*. În cazul reacţiilor autoimune, sub influenţa unor medicamente se formează antigeni nativi pe suprafaţa anumitor celule. Exemple sunt anemia

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

hemolitică la metildopa sau sindromul lupoid produs de hidralazine, sulfasalazină, beta-blocante.

Dependenţa, *adicţia* sau *toxicomania* este o stare de intoxicaţie cronică caracterizată prin necesitatea constrângătoare de folosire a unor substanţe medicamentoase sau toxice. Ea se caracterizează sub forma ei completă, prin patru trăsături definitorii, cum ar fi:

- *dependenţa psihică*, adică necesitatea de ordin psihologic de a folosi un anumit medicament sau toxic;
- *toleranţa*, adică diminuarea progresivă a efectului la repetarea administrării, respectiv necesitatea creşterii dozei pentru a obţine efectul scontat;
- *dependenţa fizică*, care constă în necesitatea de a continua folosirea substanţei respective pentru a evita tulburările, uneori grave, care apar la întreruperea administrării şi sunt cunoscute sub denumirea de *sindrom de abstinenţă*;
- *psihotoxicitatea.*

Substanţele capabile să provoace dependenţă au, de regulă, acţiuni psihofarmacologice: euforizante, liniştitoare, stimulante psihomotorii, halucinogene. Substanţe cu potenţial de dependenţă sunt: morfina, heroina şi alte opioide, amfetaminele, cocaina, alcoolul etilic, barbituricele şi alte hipnotice, benzodiazepinele şi alte tranchilizante, canabinoidele (marijuana, haşiş) şi, în măsură mai mică, nicotina (tutunul) şi cafeina (cafeaua).

Dependenţa psihică este favorizată de beneficiul therapeutic: calmarea durerii, înlăturarea anxietăţii, de efectele psihice proprii substanţei respective şi de fenomenul de condiţionare a administrării. O anumită reactivitate individuală determinată genetic, ca şi intervenţia unor factori de ordin social pot motiva, de asemenea, dependenţa. Morfina, heroina, alcoolul, barbituricele, benzodiazepinele, cocaina, amfetamina au potenţial mare de dependenţă psihică; pentru canabinoide, tutun şi cafea potenţialul este relativ mic.

Administrarea repetată a unor medicamente sau toxice poate dezvolta toleranţa şi dependenţa fizică. Procesul este favorizat de prezenţa continuă a unei concentraţii mari de substanţă activă la nivelul ţesuturilor. Fenomenul prezintă specificitate chimică şi/sau farmacodinamică. Toleranţa şi dependenţa sunt încrucişate, pentru diferitele opioide de tip morfinic sau pentru alcool, barbiturice şi parţial pentru benzodiazepinele tranchilizante.

Toleranţa apare mai ales pentru efectele centrale cu caracter subiectiv, mai puţin pentru cele periferice. Ca mecanism, toleranţa are obişnuit o semnificaţie farmacodinamică, se dezvoltă progresivprocese adaptative de sens contrar intervenţiei medicamentului sau toxicului respectiv. Subiectul care a folosit repetat morfină sau alte opioide, barbiturice, benzodiazepine, băuturi alcoolice, prezintă la întreruperea administrării unui sindrom characteristic, sindromul de abstinenţă, care marchează dependenţa fizică, obligând la continuarea administrării. Sindromul de abstinenţă diferă pentru diversele categorii de substanţe capabile de a dezvolta dependenţă; se descriu de exemplu un sindrom de abstinenţă propriu opioidelor, altul de tip alcool-barbiturice. Majoritatea simptomelor corespund unor efecte inverse celor produse de medicamentele sau toxicele respective. Aceasta sugerează că în cursul administrării repetate se dezvoltă fenomene adaptative contrare, care ramân fără contrapondere la întreruperea administrării. Sindromul de abstinenţă este mai grav în cazul substanţelor cu acţiune intensă şi de durată relativ scurtă, cum sunt morfina sau heroina. Antagoniştii specifici, de exemplu naloxona în cazul morfinei, administraţi la persoanele dependente declanşează repede un sindrom de abstinenţă sever, datorită împiedicării acţiunii caracteristice a drogului respectiv.

Dintre substanţele cu potenţial mare de toleranţă şi dependenţă fizică sunt morfina, barbituricele, benzodiazepinele şi alcoolul; potenţialul este mic pentru amfetamine, canabinoide, tutun şi cafea.

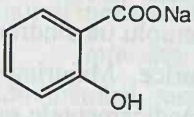
Psihotoxicitatea, cea de a patra caracteristică a dependenţei, se manifestă prin tulburari de comportament, uneori cu caracter psihotic. Acestea apar în condiţiile folosirii îndelungate şi abuzive de doze mari de barbiturice şi alcool, amfetamine, cocaină.

Tratamentul dependenţei este foarte dificil datorită întrepătrunderii celor trei factori etiopatogenici: medicament psihotrop, teren psihic, condiţii sociale favorizante. Sunt necesare, în primul rând, măsuri profilactice: acţiuni educative, folosirea judicioasă a medicamentelor cu risc, reglementări riguroase privind asemenea substanţe (cunoscute în legislaţia noastră sub denumirea de „stupefiante"). Tratamentul curativ se face în condiţii de spitalizare, sub supraveghere. Pot fi utile, după caz: medicamente psihotrope, care înlătură fenomenele psihice favorizante ale dependenţei, substanţe care atenuează sindromul de dependenţă (de exemplu metadona pentru morfină sau heroină),

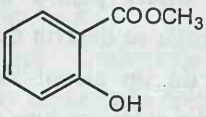
substanţe care provoacă aversiune (cum este disulfiramul în cazul intoxicaţiei alcoolice).

Medicamente analgezice-antipiretice, antiinflamatoare nesteroidiene

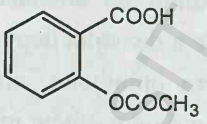
Derivaţii acidului salicilic. Structura chimică. În medicină se utilizează de regulă salicilatul de sodiu, salicilatul de metil (Saliform), acidul acetilsalicilic (Aspirina), salicilamida (Salizol).



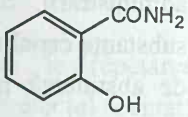
salicilat de sodiu



salicilat de metil



acid acetilsalicilic



salicilamida

Proprietăţi fizico-chimice. Salicilatul de sodiu, salicilamida şi acidul acetilsalicilic sunt pulberi albe cristaline, cu gust uşor acid. Salicilatul de sodiu este uşor solubil în apă, însă acidul acetilsalicilic este greu solubil în apă (1%), dar solubil în solvenţi organici. Salicilamida este solubilă în apă la fierbere şi în solvenţi organici. Salicilatul de metil este un lichid uleios, incolor, cu miros aromatic, insolubil în apă, solubil în alcool.

Etiologia intoxicaţiilor. Intoxicaţiile acute au loc cel mai frecvent cu aspirină. Întrebuinţarea îndelungată şi abuzivă a derivaţilor salicilici poate genera fenomene de intoxicaţie cronică.

Intoxicaţiile voluntare (sinucideri) se produc cu aspirină, cu mare frecvenţă, în Europa şi America şi cu salicilat de metil în unele regiuni din Africa şi Asia.

Intoxicaţiile accidentale propriu-zise survin la copii, reprezentând până la 15% din intoxicaţiile medicamenoase în unele ţări şi se produc mai ales cu aspirină efervescentă.

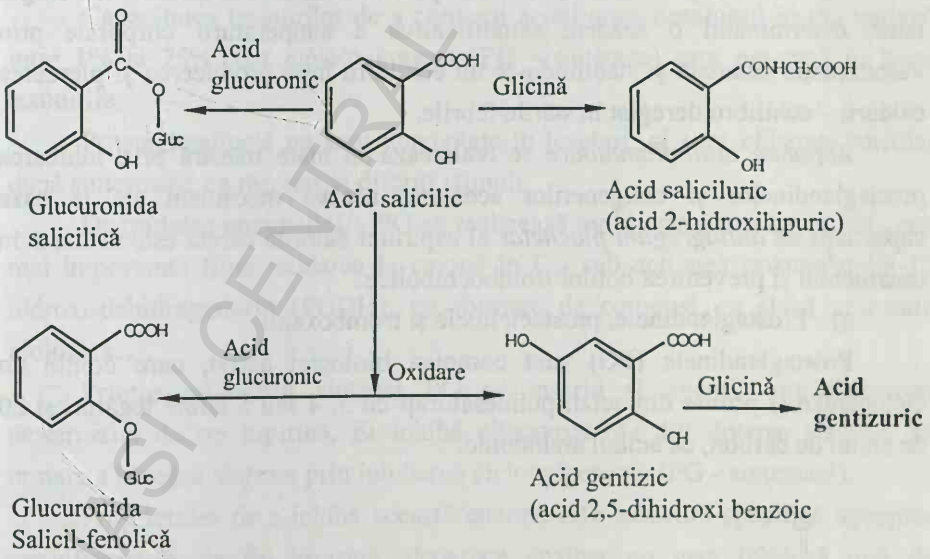
Intoxicaţiile terapeutice au loc prin hipersensibilitate sau prin supradozare. În ultimul caz, accidentul poate fi determinat de: doza masivă, funcţia renală afectată (acumulare toxică), predispoziţie locală sau generală (ulcer, ciroză hepatică) sau ingerare concomitentă a mai multor preparate cu derivaţi salicilici. La copii, accidentele terapeutice sunt mai frecvente şi mai grave şi se explică prin particularităţile morfo-funcţionale ale rinichilor, care determină o eliminare mai lentă şi mai labilă. Totodată, chiar doze normale de aspirină pot

provoca salicilemii crescute la febrili şi deshidrataţi, din cauza scăderii fluxului sanguin şi a pH-ului urinar, cu încetinirea eliminării renale.

Pătrundere, distribuţie, metabolizare, depozitare, eliminare. Derivaţii salicilici sunt absorbiţi pe toate căile. Pe cale digestivă, absorbţia are loc în stomac şi în primul segment din intestinul subţire, când salicilaţii se găsesc sub formă neionizată, liposolubilă, putând străbate membranele celulare. În intestin, salicilaţii sunt ionizaţi la pH alcalin, iar reabsorbţia este împiedicată. În acest mod se explică frecvenţa redusă a eroziunilor mucoasei intestinale, precum şi mai buna tolerare a aspirinei tamponate.

În sânge, ionul salicilat circulă sub formă liberă şi sub formă legată de proteinele plasmatice, ambele forme fiind în echilibru dinamic.

După absorbţie, ionul salicilat este distribuit rapid în toate ţesuturile şi lichidele organismului, traversând şi bariera placentară. Hidroliza derivaţilor salicilici, cu excepţia salicilamidei care nu suferă hidroliză, are loc în plasmă şi ficat. Ionul salicilic este responsabil de majoritatea acţiunilor farmacologice, totuşi unele efecte ale aspirinei se datorează capacităţii sale de a acetila proteinele.



Schema 1. Metabolizarea acidului salicilic

Acidul salicilic se metabolizează prin: conjugare la COOH cu acidul glucuronic şi cu glicocolul şi la OH cu acidul glucuronic şi într-o mai mică măsură, oxidare la nucleu cu formare de acid gentizic.

Salicilamida este conjugată cu acidul glucuronic şi în mici cantităţi oxidată la nucleu, similar acidului salicilic.

Eliminarea renală este relativ lentă şi are loc prin filtrare glomerulară şi reabsorbţie tubulară a ionului salicilat şi prin secreţie tubulară a derivaţilor conjugaţi. Eliminarea este favorizată de alcalinizarea urinei datorită reducerii reabsorbţiei tubulare; alcalinizarea, are şi avantajul creşterii eliminării fracţiunii libere, difuzibile a salicilaţilor.

Acţiunea antipiretică-analgezică, antiinflamatoare-antireumatică a derivaţilor salicilici îi recomandă în algii de diferite origini, stări febrile, reumatism articular (acut şi cronic), stări inflamatorii diverse.

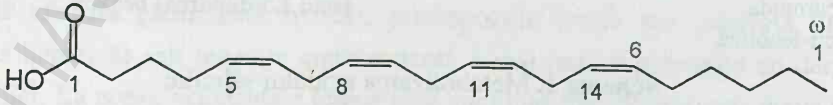
Acţiunea analgezică a medicamentelor de tip aspirină se explică prin deprimarea SNC, cu ridicarea pragului de percepere a durerii, fără a afecta cortexul şi a modifica psihismul, ca analgezicele de tip morfină.

Acţiunea antipiretică se realizează prin influenţarea centrului termoregulator, determinând o scădere semnificativă a temperaturii corporale prin vasodilataţie cutanată şi stabilindu-se un echilibru între producerea şi pierderea căldurii – echilibru dereglat în stările febrile.

Acţiunea antiinflamatoare se realizează în mare măsură prin inhibarea prostaglandinelor şi congenerilor acestora; acelaşi mecanism stă la baza capacităţii de *antiagregant plachetar* al aspirinei datorită căreia este utilizată în tratamentul şi prevenirea bolilor tromboembolice.

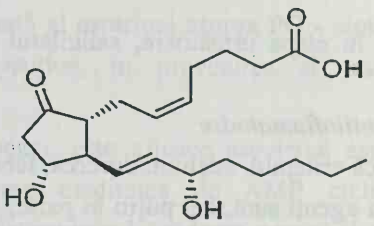
a) Prostaglandinele, prostaciclinele şi tromboxanii

Prostaglandinele (PG) sunt compuşi biologici activi, care conţin un ciclopentan şi provin din acizii polinesaturaţi cu 3, 4 sau 5 duble legături şi 20 de atomi de carbon, ca acidul arahidonic.



Acid arahidonic

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY



Prostaglandina PGE_2

După natura acidului gras polinesaturat, PG se divid în seriile 1, 2, 3, seria 2 provenind de la acidul arahidonic, precursorul PG cel mai abundent la om. După structura ciclului pentanic, PG se divid în seriile A, B, C, D, E, F numite şi prostaglandine primare.

Acizii graşi polinesaturaţi rezultă prin scindarea fosfolipidelor din membranele celulare sub acţiunea fosfolipazei A_2 activată de hormoni vasoactivi ca kinina. Prostaglandinele se formează prin conversia acestor acizi graşi polinesaturaţi, cu apariţia intermediară a endoperoxizilor ciclici (-OOH în C_{15}) sub acţiunea ciclooxigenazei (prostaglandin - sintetazei).

Capacitatea ţesuturilor de a converti acizii graşi nesaturaţi în PG variază între 1% şi 75%, dar ciclooxigenaza (PG - sintetaza) este prezentă în toate ţesuturile.

Prostaglandinele nu sunt depozitate în ţesuturi, ci sunt eliberate imediat după sintetizare, ca răspuns la diferiţi stimuli.

Degradarea enzimatică a PG se realizează rapid prin patru modalităţi, cea mai importantă fiind oxidarea la cetonă în C_{15} sub acţiunea prostaglandin-15 hidroxi-dehidrogenazei (PGDH), cu formare de compuşi cu slabă activitate biologică.

Printre inhibitorii sintezei PG se înscriu şi agenţii antiinflamatori nesteroizici de tip aspirină. Ei inhibă eliberarea PG din diverse ţesuturi, ca urmare a blocării sintezei prin inhibarea ciclooxigenazei (PG - sintetazei).

Proprietatea de a inhiba această enzimă este oarecum specifică agenţilor antiinflamatori de tip aspirină, deoarece enzima nu este inhibată nici de corticoizii puternic antiinflamatori, nici de izomeri ai acidului salicilic lipsiţi de efect terapeutic. Inhibiţia determinată de aspirină este de tip competitiv – ireversibil, în intereacţia cu centrul catalitic al enzimei intrând în prima etapă

BCMJ - CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

gruparea acetil, iar în etapa următoare, salicilatul eliberat prin metabolizarea aspirinei.

b) *Acţiunea antiinflamatoare*

Se consideră că eritemul, edemul, durerea, febra din procesele inflamatorii provocate de diverşi agenţi sunt, cel puţin în parte, consecinţa acţiunii unor PG tisulare eliberate în regiunea afectată.

Eritemul se produce prin relaxarea musculaturii netede a arteriolelor şi venulelor şi a pătrunderii elementelor sanguine în spaţiul interstiţial.

Edemul este rezultatul contracţiei celulelor endoteliale venulare, cu creşterea permeabilităţii vasculare.

Durerea se datorează sensibilizării regiunii inflamate la acţiunea a unor substanţe endogene ca bradikinina şi histamina.

Faptul că unele PG, ca de exemplu PGE_1, sunt puternic pirogene, explică parţial febra asociată procesului inflamator.

În afară de acţiunea asupra biosintezei PG, mecanismul antiinfamator al derivaţilor salicilici în boala reumatismală implică şi acţiuni asupra altor procese celulare şi imunologice în ţesutul mezenchimal şi conjunctiv, cum ar fi de pildă, afectarea, de către salicilaţi, a compoziţie, biosintezei şi metabolismului mucopolizaharidelor.

c) *Acţiunea de antiagregant plachetar*

În ţesutul vascular, este sintetizată, plecând de la acidul arahidonic, o substanţă care inhibă aglutinarea plachetelor, dezagregă plachetele deja aglutinate şi dilată vasele sanguine. Această substanţă a fost numită prostaciclină (PGI_2). După formarea sa în peretele vascular, PGI_2 difuzează în circulaţie şi contribuie la activitatea antiaglutinantă a sângelui.

Tromboxanul A_2, descoperit în trombocite, este un puternic aglutinant plachetar, fiind aşadar antagonist PGI_2, care este antiaglutinantă.

Aspirina, prin inhibarea PG - sintetazei şi deci suprimarea formării endoperoxizilor ciclici, determină, odată cu inhibarea sintezei PG şi inhibarea sintezei celorlalţi produşi rezultaţi din endoperoxizii ciclici: PGI_2 şi TxA_2. Deoarece inhibarea PG – sintetazei este ireversibilă, efectul inhibitor durează întreaga viaţă a plachetelor.

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Efectul de lungă durată al aspirinei asupra PG - sintetazei plachetare are importante aplicaţii terapeutice, în prevenirea şi tratarea complicaţiilor aterosclerozei.

În prevenirea trombozei, este eficace asocierea aspirină - dipiridamol. Ambele medicamente cresc cantitatea de AMP ciclic (adenozin 3',5'-monofosfat) în plachete, determinând scăderea agregării plachetare, însă prin mecanisme diferite: aspirina inhibă formarea TxA_2 în plachete, facilitând efectele PGI_2 circulante asupra creşterii concentraţiei de AMP ciclic; dipiridamolul inhibă fosfodiesteraza, care degradează AMP ciclic, deci împiedică scăderea AMP ciclic. Utilizarea aspirinei este însă complicată de faptul că aceasta inhibă, pe lângă formarea PG şi formarea PGI_2 în vasele sanguine. Ciclooxigenaza din peretele vascular este însă mai puţin sensibilă la acţiunea inhibitoare a aspirinei decât ciclooxigenaza plachetară, astfel încât doza de aspirină este decisivă: doze slabe (100 mg/zi) sunt suficiente pentru a împiedica formarea TxA_2 de către plachete, fără a afecta formarea PGI_2 în ţesutul vascular şi probabil în plămâni. Adaosul de dipiridamol la dozele slabe de aspirină permite menţinerea AMP ciclic plachetar la nivel ridicat, datorat PGI_2.

Proprietăţi toxicologice. Doza toxică de derivaţi salicilici prezintă mari variaţii individuale. Doze de 3 g/zi pot determina fenomene toxice, în timp ce doze de 10 g/zi pot fi bine suportate. Doza toxică este considerată 15-20 g aspirină la adult şi 0,15 g/kg la copil. Doza letală de aspirină este apreciată la 20-30 g, dar se citează cazuri care au supravieţuit după ingerarea a 60 g şi chiar 130 g aspirină. Salicilatul de metil este cel mai toxic dintre derivaţii salicilici: 4 ml (4,7 g) pot determina moartea unui copil.

Printre reacţiile adverse se înscriu manifestările:

- digestive: greţuri, vărsături, anorexie, iritaţia mucoasei gastrointestinale cu producerea hemoragiilor digestive prin mecanisme diferite;
- neuropsihice şi neurosenzoriale: euforie, bună dispoziţie, agitaţie psihomotorie, cefalee, tremurături, datorate excitării cortexului şi a centrilor subcorticali, prin efect direct determinat de concentrarea salicilatului în celula nervoasă şi prin efect indirect, urmare a epuizării rezervelor de glucoză din ţesutul cerebral: hipoacuzie, zgomote în urechi, datorate congestiei şi hemoragiei

la nivelul aparatului cochlear şi al timpanului; reducerea câmpului vizual, viziune colorată, consecinţele vasoconstricţiei vaselor retiniene;

- alergice: erupţii cutanate, edeme, febră, în general benigne. La un număr restrâns de persoane, pot apărea, la câteva minute după ingerarea unei singure pastile de aspirină, fenomene de intoleranţă (hipersensibilitate) ca rinită cu secreţie apoasă abundentă, edem angioneurotic, urticarie, hipotensiune, colaps vasomotor.

Alte reacţii adverse constau în perturbare de:

- Metabolisme: interferarea în metabolismul energetic cu decuplarea fosforilării oxidative şi scăderea sintezei compuşilor macroergici (ATP) cu multiple consecinţe, ca: alterarea permeabilităţii membranare dependentă de cantitatea de energie; scăderea sintezei glutaminei, glicogenului care necesită ATP; creşterea compensatorie a glicolizei aerobe, a cărei energie oxidativă, transformată în energie calorică, se pierde prin tegumente. Derivaţii salicilici perturbă şi metabolismul glucidic, prin scăderea cantităţii de glicogen hepatic şi muscular; inhibarea neoglucogenezei hepatice şi creşterea folosirii glucozei în ţesuturile periferice, determină hipoglicemie.

- Coagulare: scăderea hemostazei plachetare, prin inhibarea PG–sintetazei, determină interzicerea aspirinei şi medicamentelor similare la pacienţii cu afecţiuni hepatice grave, hipoprotrombinemie, deficienţă în vitamina K, hemofilie, deoarece pot rezulta hemoragii. Din acelaşi motiv, tratamentul cu aspirină trebuie oprit cu o săptămână înaintea unei intervenţii chirurgicale. De asemenea, trebuie ţinut seama de faptul că utilizarea aspirinei în timpul tratamentelor de lungă durată cu anticoagulanţi orali poate declanşa sângerări ale mucoasei gastrointestinale.

Tratamentul constă în:

- spălătură gastrică cu suspensie de cărbune sau, după unii autori, cu soluţie de bicarbonat, urmate de purgativ salin;
- diureză osmotică alcalinizantă (cu bicarbonat de sodiu), aplicată precoce sub controlul pH-ului sanguin şi cu corectarea hipopotasemiei şi hipocalcemiei;
- corectarea dezechilibrului hidroelectrolitic;
- combaterea hipertermiei şi a convulsiilor;
- administrare de vitamina K_1.

BCU "ION CREANGĂ" - UNIVERSITY LIBRARY

Toxicologie analitică. Derivaţii de acid salicilic se izolează din medii acide cu solvenţi organici. Salicilatul de metil poate fi antrenat cu vapori de apă.

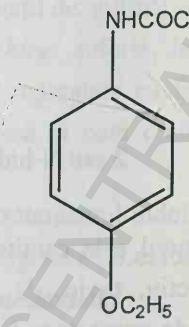
Identificare: prin reacţia de culoare cu clorura ferică, când se obţine o coloraţie violetă (vezi Cap. IX. Toxicologie analitică).

Medicamente derivate de la anilină

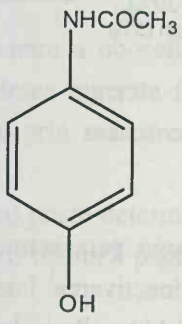
Substanţele care conţin un nucleu benzenic au, în principiu, activitate antipiretică. Deosebit de activă este anilina însă toxicitatea sa, conferită de gruparea aminică, NH_2, o exclude din terapeutică. Acetanilida (antifebrina), C_6H_5-$NHCOCH_3$, este cel mai vechi analgezic-antipiretic (1886), însă a fost, de asemenea, abandonată din cauza toxicităţii.

Structura chimică: Derivaţii de anilină analgezici-antipiretici sunt fenacetina (acetofenetidina) şi paracetamolul (acetaminofenul).

Proprietăţi fizico-chimice: Fenacetina şi paracetamolul sunt pulberi albe, cristaline, inodore, insipide sau cu gust uşor amar (paracetamolul). Sunt puţin solubile în apă, solubile în alcool şi în cloroform.



fenacetina



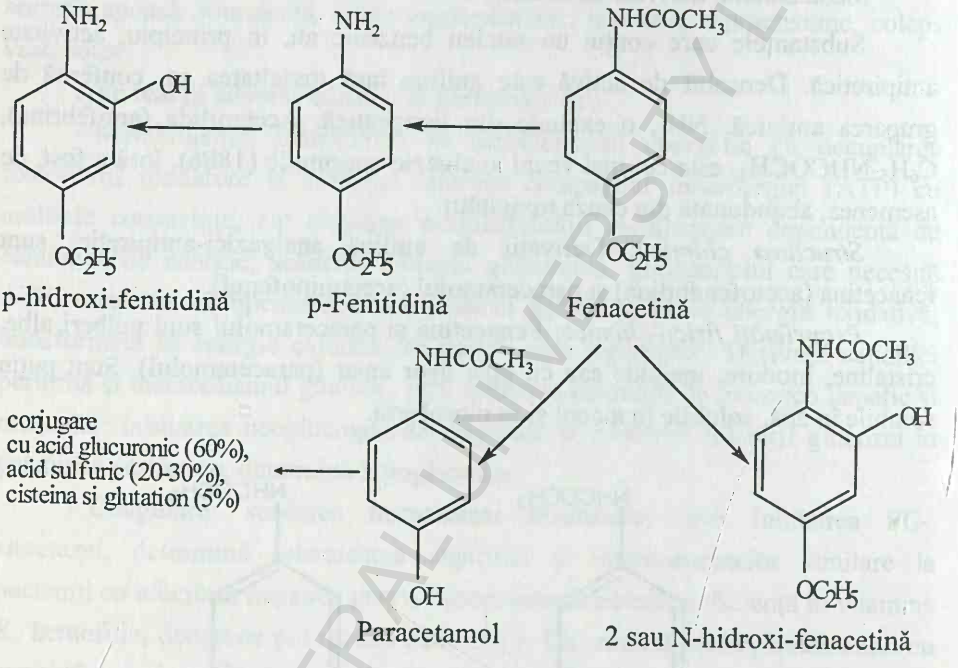
paracetamol

Etiologia intoxicaţiilor: Intoxicaţia acută se datorează absorbţiei masive în scop de sinucidere sau prin confuzie. Intoxicaţia cronică este urmarea absorbţiei zilnice şi îndelungate a produsului sau a formelor sale medicamentoase.

Pătrunderea, distribuţia, metabolizarea, depozitarea şi eliminarea. Derivaţii de anilină sunt absorbiţi rapid şi complet din tractul gastrointestinal, apoi distribuiţi uniform în toate ţesuturile.

BUKA / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Fenacetina este metabolizată prin dezetilare la paracetamol şi mai puţin, prin dezacetilare, urmată de 2-hidroxilare la *p*-fenetidină, respectiv 2-hidroxi-fenetidină şi de asemenea, prin hidroxilare la nucleu, cu formare de hidroxi-fenacetină. Toţi metaboliţii sunt conjugaţi cu acid glucuronic sau sulfuric.



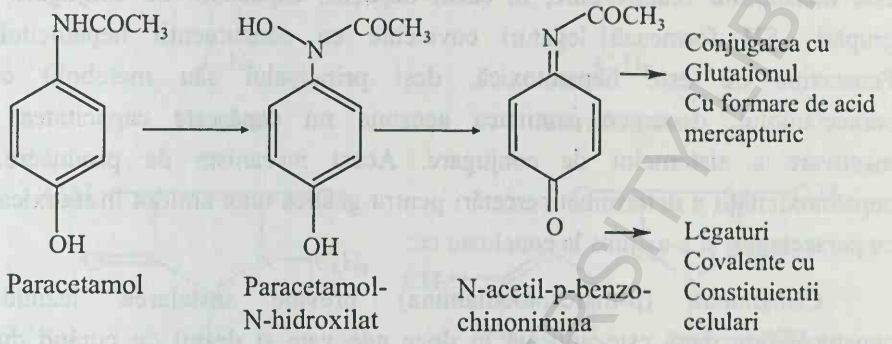
Conjugarea paracetamolului cu glutationul este cantitativ neînsemnată, însă asigură inactivarea intermediarului reactiv, toxic, de tip chinonimină, produs prin N-hidroxilare. În doze excesive de paracetamol, are loc scăderea rezervelor de glutation, astfel încât intermediarul toxic nu mai este inactivat prin conjugare, ci formează legături covalente cu constituienţii hepatocitului, rezultând alterarea acestuia.

Inductorii enzimatici de tip fenobarbital intensifică activitatea oxidazelor cu funcţii mixte microzomiale, crescând procentul de metabolit toxic şi mărind hepatotoxicitatea paracetamolului.

Proprietăţi toxicologice. Mecanism de acţiune. Fenacetina este analgezic, antipiretic şi sedativ, iar paracetamolul are acţiune antipiretică superioară fenacetinei. Paracetamolul este antiinflamator, dar numai în doze superioare

BUJAK CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

celor necesare pentru analgezice. Acţiunea antiinflamatorie redusă, lipsa de iritare gastrică şi neinfluenţarea timpului de sângerare corespund cu slaba capacitate de a inhiba prostaglandinele.



OFMM Oxidaze cu funcţii mixte microzomiale

Reacţiile adverse mai frecvente sunt următoarele:

- *alergice:* erupţii cutanate, hipertermie, în general benigne şi trecătoare, cu excepţia dermatitei exfoliative; subiecţii hipersensibili la salicilaţi manifestă alergie şi la derivaţii de anilină;

- *neuropsihice*: euforie, impresie de ameliorare a oboselii şi a cefaleei, fapt pentru care reparatele cu fenacetină sunt adesea ingerate fără o indicaţie terapeutică expresă şi care constituie un pericol prin mascarea surmenajului renal;

- *renale*: tratamentul îndelungat (reumatism) poate determina „nefropatia prin abuz de analgezice". Leziunea primară este o necroză papilară urmată de nefrită cronică interstiţială;

- *methemoglobinizante şi hemolitice*: fenacetina determină apariţia methemoglobinei (MetHb), sulfhemoglobinei, cianozei, anemiei hemolitice numai la doze mari. În administrare cronică, nu apar astfel de manifestări deoarece MetHb nu se cumulează, ci trece în hemoglobină prin mecanismele normale ale organismului. Întrucât o doză unică de 2 g fenacetină la adult transformă numai 1-3% din Hb totală în MetHb, methemoglobinemie determinată de doze terapeutice de fenacetină sau paracetamol nu se exprimă clinic. În intoxicaţia acută sau în abuzul cronic, methemoglobinemia poate contribui la toxicitatea generală.

BCU "CAROL DAVILA" UNIVERSITY LIBRARY

- *hepatice*: după o doză unică de 10-15 g de paracetamol (25 g este doza letală), apare necroză centrolobulară urmată de fibroză, dar fără ciroză; cauza este metabolitul reactiv care, în cazul depăşirii capacităţii de conjugare cu grupări –SH formează legături covalente cu constituenţii hepatocitului. Fenacetina nu este hepatotoxică, deşi principalul său metabolit este paracetamolul, deoarece cantitatea acestuia nu depăşeşte capacitatea de inactivare a sistemelor de conjugare. Acest mecanism de producere a hepatotoxicităţii a determinat cercetări pentru găsirea unui antidot în intoxicaţia cu paracetamol şi s-a ajuns la concluzia că:

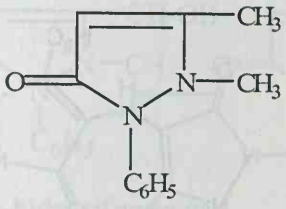
Cisteamina (β-mercaptoetilamina) previne instalarea leziunilor hepatocelulare dacă este aplicată în doze adecvate şi destul de curând după intoxicaţie (10 ore). Cisteamina ar acţiona prin inhibarea oxidării microzomiale, deci oprirea formării metabolitului toxic, prin detoxicarea metabolitului nociv datorită grupărilor sale -SH libere sau ca precursor al glutationului. Cisteamina nu este însă lipsită de oarecare toxicitate;

N-acetilcisteina este mai eficace şi mai puţin toxică decât cisteamina. Acţiunea sa se bazează pe hidroliza rapidă la cisteină. Trebuie însă ca administrarea să fie precoce (în primele 16 ore de la intoxicaţie), iar în cursul tratamentului să nu se administreze adsorbanţi (cărbune activ) şi purgativ, deoarece aceştia inactivează antidotul.

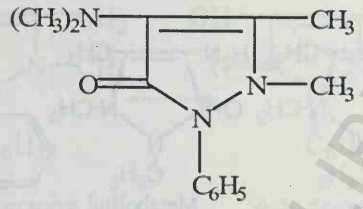
Derivaţi de pirazolonă şi pirazolidină

Fenazona (Antipirina, Analgezina), Aminofenazona (Amidopirina, Piramidonul, Novamidonul), Fenilbutazona (Butazolidin, Butapirazol, Butalidon), Oxifenilbutazona (Oxalid, Tanderil), Cetofenilbutazona (Ketazon), Apazona (Azapropazona, Rheumox) prezintă următoarele structură chimice:

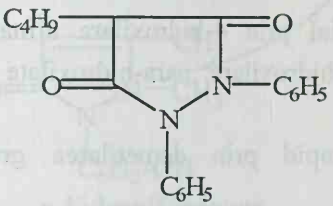
BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY



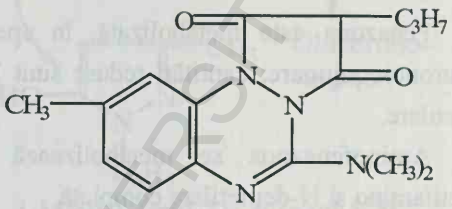
Fenazona



Aminofenazona



Fenilbutazona



Apazona

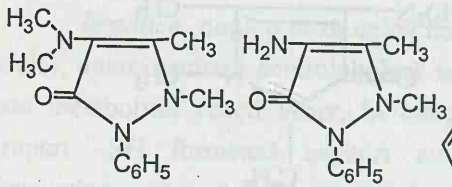
Proprietăţi fizico-chimice. Derivaţii de pirazolonă şi pirazolidină sunt pulberi albe, cristaline. Fenazona este solubilă în apă, etanol şi cloroform şi puţin solubilă în eter. Aminofenoza este solubilă în cloroform şi etanol, mai puţin solubilă în apă şi eter. Fenilbutazona şi congenerii săi sunt solubili în cloroform, puţin solubili în eter şi etanol, aproape insolubili în apă.

Etiologia intoxicaţiilor. Intoxicaţiile acute sunt de natură terapeutică, mai rar voluntare.

Pătrundere, distribuţie, metabolizare, depozitare şi eliminare. Aceşti compuşi sunt absorbiţi rapid şi complet din tractul gastrointestinal. În sânge, o mică porţiune de fenazonă şi aminofenazonă se leagă de proteinele plasmatice, restul se repartizează în ţesuturi, proporţional cu conţinutul lor în apă. Fenilbutazona şi congenerii săi, ca şi apazona, se leagă, în majoritate de proteinele plasmatice, formând complecşi în echilibru cu fracţiunea liberă. Din cauza acestor complecşi eliminarea lor din organism este lentă.

Metabolitul aminofenazonei are activitate terapeutică mai ridicată şi o grad de toxicitate mai redus decât al fenazonei introdusă în corp, iar prin condensare intramoleculară acesta conduce la acid rubazonic de culoare roşie.

BCU "ASTRA" CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY



Aminofenazona

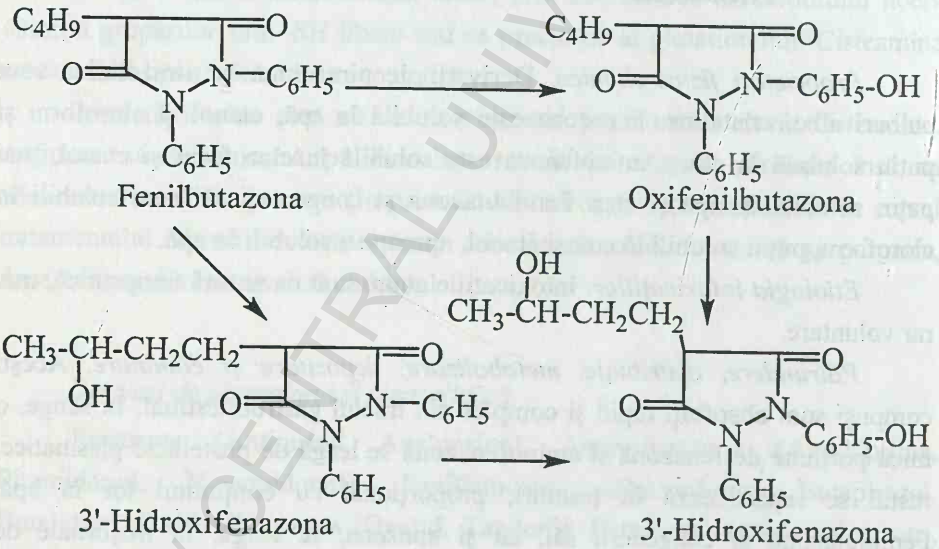
4-dimetilamino-1,5-dimetil-
-2-fenilpirazol-3-ona

Metabolitul
aminofenazonei

Acid rubazonic

Fenazona este metabolizată, în special prin 4-hidroxilare urmată de glucurono-conjugare; cantităţi reduse sunt 3-hidroxilare, para-hidroxilate şi N-demetilare.

Aminofenazona se metabolizează rapid prin demetilarea grupării dimetilamino şi N-demetilare completă.



Fenilbutazona

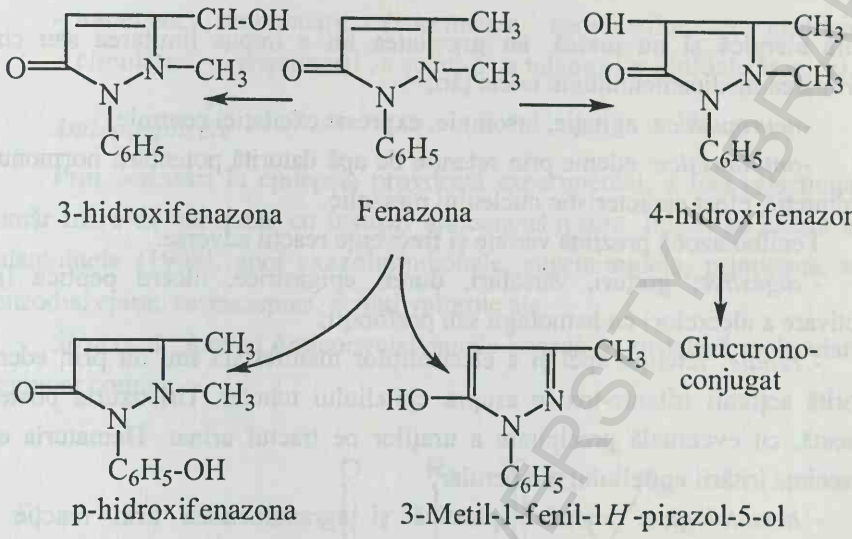
Oxifenilbutazona

3'-Hidroxifenazona

3'-Hidroxifenazona

Fenilbutazona este metabolizată prin para-hidroxilare la oxifenilbutazonă, un metabolit activ care se leagă în proporţie de 90% de proteinele plasmatice, ca şi fenilbutazona. O parte din oxifenilbutazonă se hidrolizează la catena laterală. Compuşii hidroxilaţi se glucuronoconjugă:

BCU MS / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY



Eliminarea urinară a fenilbutazonei este lentă datorită legării sale de proteinele plasmatice. Apazona este excretată urinar nemodificată (65%) sau hidroxilată la nucleul benzenic (20%).

Proprietăţi toxicologice. Toxicitatea acută a acestor derivaţi este redusă. Corpul uman poate suporta o doză de până la 14-40 g febilbutazona în cazul unui adult şi până la 2-3 g, în cazul unui copil.

Principalele reacţii adverse la fenazonă:

- *alergice*: erupţii eritematomaculare persistente, lăsând după dispariţie tegumentele mai pigmentate;

- *hematologice*: anemie funcţională cu pseudocianoza trecătoare, methemoglobinemie, corpusculi Heinz, fenomene legate de capacitatea methemoglobinizantă a fenazonei.

Aminofenazona reprezintă următoarele manifestări:

-*cutanate*: generalizate (erupţie, urticarie, eritem) sau localizate (edem angioneurotic, herpes), consecinţa unui proces alergic de creştere a permeabilităţii vasculare, cu extravazare de lichid la persoanele hipersensibile la aminofenazonă (la persoanele normale, aminofenazonă are, dimpotrivă, efect de scădere a permeabilităţii);

-*hematologice*: leucopenie sau agranulocitoză, consecinţa inhibării maturării granulocitelor fără afectarea genezei şi citodiabazei; accidentul este de

natură alergică şi nu toxică, iar gravitatea lui a impus limitarea sau chiar suprimarea medicamentului în unele ţări;

-*neuropsihice*: agitaţie, insomnie, expresie excitaţiei centrale;

-*antidiuretice*: edeme prin retenţie de apă datorită potenţării hormonului antidiuretic, efect caracteristic nucleului pirazolic.

Fenilbutazonă prezintă variate şi frecvenţe reacţii adverse:

- *digestive*: greţuri, vărsături, dureri epigastrice, ulcere peptice (sau reactivare a ulcerelor) cu hemoragii sau perforaţii;

- *renale*: retenţia apei şi a electroliţilor manifestată sau nu prin edeme, datorită acţiunii iritante-toxice asupra epiteliului tubular. Uricozuria poate fi crescută, cu eventuală precipitare a uraţilor pe tractul urinar. Hematuria este consecinţa iritării epiteliului glomerular;

- *hematologice*: anemie aplastică şi agranulocitoză prin reacţie de sensibilizare;

- *cutanate*: de la erupţii trecătoare la dermatită exfoliativă, adesea mortală. Mecanismul este alergic;

- *neuropsihice*: excitaţie, insomnie, datorită structurii fenilbutazonei.

Oxifenilbutazona şi cetofenilbutazona prezintă aceleaşi reacţii adverse ca şi fenilbutazonă, dar mai puţin grave.

Apazona este, în general, bine tolerată. Dintre reacţiile adverse, sunt de menţionat manifestările digestive (dispepsie, greţuri, dureri epigastrice), cutanate (eritem), nervoase (cefalee, ameţeli), rareori atât de intense încât să impună întreruperea tratamentului.

Simptomatologie. Intoxicaţia acută cu fenazonă şi aminofenazonă determină manifestări nervoase (ameţeli, excitaţie psihomotorie, convulsii tonico-clonice asemănătoare celor din criza epileptică) datorate stimulării centrilor corticali şi subcorticali. În cazuri grave se produce colaps casdiovascular.

Intoxicaţia acută cu fenilbutazonă şi congeneri conduce la tulburări nervoase, cardio-respiratorii, digestive, hematologice, renale şi metabolice, curanate, hepatice.

Tratament:

- provocare de vărsături sau spălătură gastrică cu suspensie de cărbune activat, urmată de purgativ salin;

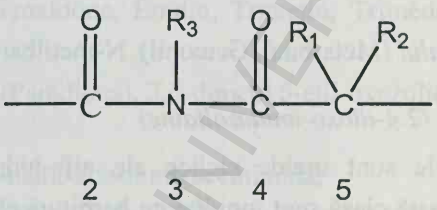
BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

- tratament simptomatic (suprimarea convulsiilor, a insuficienţei circulatorii şi respiratorii , a şocului , a tuburarilor hidroelectronice).

Antiepilepticele

Prin cercetări în epilepsia provocată experimental, a fost selecţionat un număr mare de substanţe cu însuşiri anticonvulsivante. Iniţial au apărut astfel hidantoinele (1908), apoi oxazolidindionele, succinimidele, primidona, unele benzodiazepine, carmazepina, acidul valproic etc.

*Structură chimică.*Anticonvulsivantele posedă în structură moleculară un fragment comun:



În care,

-R_1 şi R_2 sunt hidrogeni, alchili sau fenili;

-R_3 este hidrogen sau alchil;

-C=O poate fi înlocuit cu CH_2 (ca în pirimidonă);

Lanţul poate fi închis printr-un NH (hidantoinic), O (oxazolidindione), CH_2 (succinimide) sau a -HN-CO (barbiturice, pirimidindione) sau poate fi deschis (ureide)., Astfel de structuri sunt caracteristice următoarelor clase de anticonvulsivante: babiturice, hidantoine, oxazolidindione, succinimide, pirimidindione, ureide.

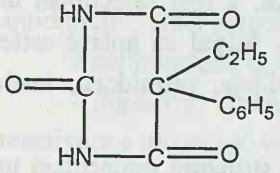
Anticonvulsivantele mai noi includ: benzodiazepine, derivaţi de iminostiben, acizicarboxilici cu catenă ramificată.

Barbiturice

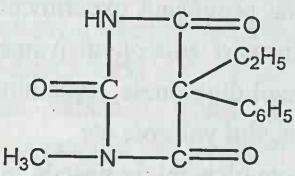
Barbituricele au acţiune anticonvulsivantă, iar activitatea maximă o prezintă derivaţii cu un fenil în poziţia 5. Sunt folosite pentru tratarea epilepsiei, doză terapeutică anticonvulsivantă a barbituricelor trebuie să fie inferioară dozei sedative sau hipnotice.

Barbituricele anticonvulsivante sunt:

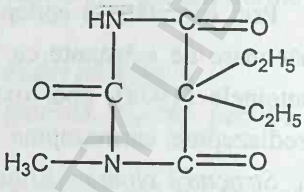
- *Fenobarbitalul*, acid etilfenilbarbituric;
- *Mefobarbitalul* (Prominal, Mebaral sau N-metilbarbital);



Fenobarbital



Mefobarbital



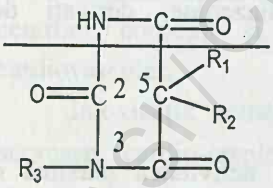
Metabarbital

- *Metarbitalul* (Metarbital, Gemonil), N-metilbarbital.

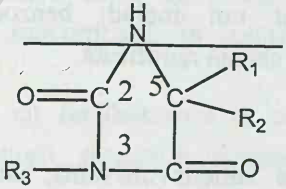
Hidantoine (2.4-dioxo-imidazolidine)

Hidantoinele sunt ureide ciclice ale alfa-hidroxiacizilor. Anticonvulsivantele din această clasă sunt înrudite cu barbituricele. Substituentul fenil din poziţia 5 le conferă activitate maximă. Dintre hidantoine sunt aplicate următoarele:

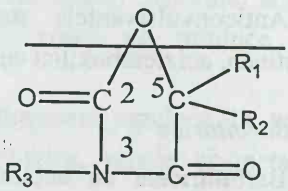
- *Fenitoina* (Hidantion, Fenantoin, Dihidan, Dilantin, Diphedan), 5,5-difenilhidantoina;
- *Metoina* (Mefenotoin, Mefenitoin, Metantoin, Sedantoinal, Mesantoin), 3-netil, 5-fenilhidantoina;
- *Etotoina* (Peganon), 3-etil, 5-fenilhidantoina.



Barbiturice

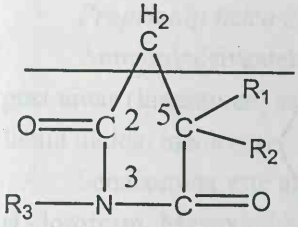


Hidantoine

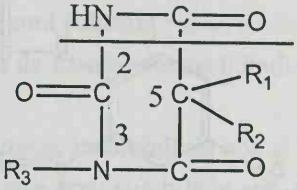


Oxazolidindione

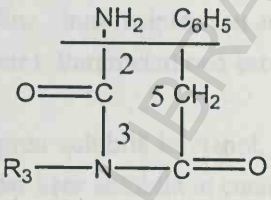
BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY



Succinimide



Pirimidindione



Ureide (fenacemida)

Anticonvulsivante

Oxazolidin, 2,4-dionele se aseamănă structural cu hidantoinele, în formula cărora gruparea NH este înlocuită cu un atom de oxigen:

- *Trimetadiona* (Troxidone, Epidin, Trimetin, Trimedal), 3,5,5-trimetil-oxazolidin, 2,2-diona;
- *Parametadiona* (Paradiona), 3,5-dimetil 5-etil-oxazolidin; 2,4-diona.

Succinimide:

- *Fensuximida*, N-metil-alfa-fenilsuccinimida;
- *Mesuximida*, N-metil-alfa-metil-alfa-fenilsuccinimida;
- *Etosuximida*, alfa-metilen-alfa-etil-succinimida;
- *Morfolep*, alfa-metil-alfa-fenil-N-morfolil-metilen-succinimida

Pirimidindione

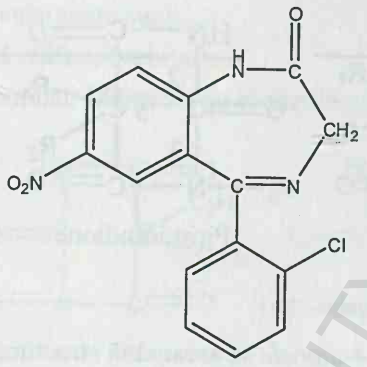
Primidona (Hexamidin, Primaclone, Mysolin, Sertan, Maysolin), 5-etil, 5-fenil-hexahidro-pirimidin-4,6-diona, se deosebeşte de fenobarbital prin înlocuirea grupării C=O cu CH_2 în poziţia 2.

Ureide

Fenacemida (Fenaciluree, Epiclase), fenacetil-uree, ureidă acidului fenilacetic C_6H_5-CH_2-CO-NH-CO-NH_2 poate fi considerată că provenind din deschiderea ciclului fenilhidantoinei.

Benzodiazepinele, cum ar fi diazepamul, clordiazepoxidul şi clonazepamul, 5(*o*-clorfenil)-1,3-dihidro-7-nitro-2*H*-1,4-benzodiazepin-2-ona prezintă şi proprietăţi anticonvulsivante.

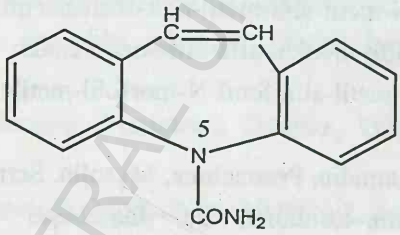
BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY



Clonazepam

Derivaţi de iminostilben

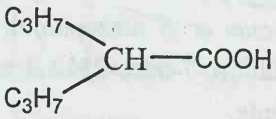
Carbamazepina (5-H dibenzazepin-5-carboxiamida) este înrudită structural cu antidepresivele triciclice, gruparea esenţială pentru activitatea antiepileptică fiind radicalul din poziţia 5.



Carbamazipina

Acizi carboxilici ramificaţi

Acidul valproic (Depakene), acid n-Dipropilacetic şi amida sa au de asemenea proprietăţi anticonvulsivante.



Acid valproic

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Proprietăţi fizico-chimice

Anticonvulsivantele sunt substanţe albe, cristaline. Sunt insipide sau au un gust amar (hidantoine) sau de camfor (oxazolidindione). Parametadiona este un lichid uleios, incolor.

Fenacemida este aproape insolubilă în apă şi greu solubilă în etanol, eter şi cloroform. Mesuximida este greu solubilă în apă, dar uşor solubilă în etanol şi în cloroform. Fenitoina este aproape insolubilă, relativ solubilă în etanol şi greu solubilă în eter şi în cloroform. Sarea de sodiu a fenitoinei este solubilă în apă şi alcool şi insolubilă în eter şi cloroform. Trepanalul este solubil în toţi cei patru solvenţi menţionaţi mai sus. De asemenea, etosuximida este deosebit de solubilă în apă (1/5), etanol, eter şi cloroform (1/1).

Pătrundere, distribuţie, metabolizare, depozitare şi eliminare

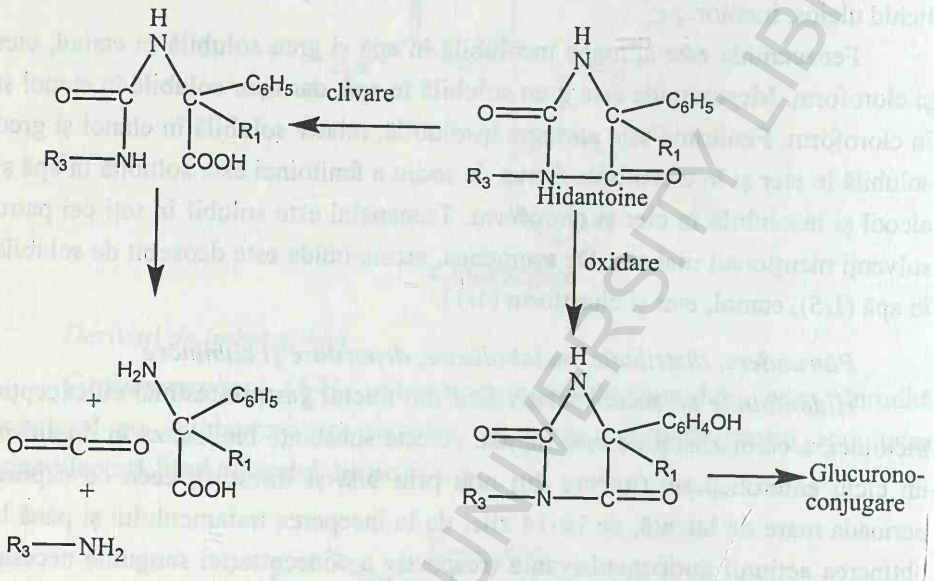
Hidantoinile se absorb relativ lent din tractul gastrointestinal cu excepţia metoinei, a cărei absorbţie este rapidă. Aceste substanţe realizează în organism un ciclu enterohepatic (trecere din nou prin bilă şi intestin), ceea ce explică perioada mare de latenţă, de 10-14 zile, de la începerea tratamentului şi până la obţinerea acţiunii anticonvulsivante (respectiv a concentraţiei sanguine necesare). Un mic procent de hidantoine se regăseşte ca atare în urină. Metabolizarea are loc în microzomii hepatici: prin oxidarea nucleului aromatic în C_5 sau prin ruperea ciclului. Astfel, dinfenitoina rezultă 5-p-hidroxifenil,5-fenilhidantoina (inactivă) sau/şi acid alfa-amino-difenilacetic. Metoina şi etoina sunt N-dezalchilate la 5-etil, 5-fenilhidantoina, respectiv 5-fehilhidantoina, metaboliţi excretaţi ca atare saubiotransformati în continuare. Metabolizarea hidantoinelor este accelerată, concomitent cu diminuarea efectelor farmacologice, de către fenobarbital, prin inducţie enzimatică. Metaboliţii sunt excretaţi parţial sub formă conjugată.

Oxazolidindionele sunt rapid absorbite pe cale digestivă. Ele se metabolizează prin demetilare, dând produşi mai activi decât medicamentele iniţiale, care se elimină ca atare pe cale renală, lent. Metaboliţii N-demetilaţi sunt în cea mai mare parte responsabili de activitatea anticonvulsivantă.

Succinimidele se absorb în porţiunea gastro-duodeno-jejunală. În cazul etosuximidei, aproximativ 20% este excretată nemodificat prin urină. Principalul

BCU IAŞI CENTRALĂ UNIVERSITARĂ LIBRARY

metabolit este derivatul hidroxilat, inactiv, excretat ca atare sau ca glucuronoconjugat; alţi metaboliţi provin din deschiderea ciclului.



Metabolizarea hidantoinelor

Primidona se absoarbe rapid şi complet. Biotransformarea se conduce la doi metaboliţi activi: fenobarbitalul (prin hidrogenare în C_2) şi fenil-etil-malonamida, PEMA (prin deschiderea ciclului). Spre deosebire de primidona şi PEMA, fenobarbitalul este legat de proteinele plasmatice.

Fenacemida se absoarbe bine din tractul gastrointestinal şi este inactivată în ficat, în principal prin parahidroxilare la fenil. Nu se elimină ca atare în urină.

Clonazepanul este metabolizat la 7-amino-clonazepamul, inactiv, iar alţii metaboliţi, în general 7-hidroxilaţi sunt eliminaţi ca atare sub formă conjugată.

Carbamazepina este rapid absorbită după administrare orală, după care se leagă în proporţie de 80% de proteine plasmatice. Metabolizarea poate conduce la iminostilben(pierderea grupării în poziţia 5) sau la formarea unui epoxid în poziţia 10-11. Iminostilbenul şi produsul 10,11-dihidroxilat, rezultat din epoxid, sunt eliminaţi sub formă de glucuronoconjugaţi. Carbamazepina este un inductor al propriei sale metabolizări.

BCU "ION CREANGĂ" UNIVERSITY LIBRARY

Acidul valproic este absorbit rapid şi complet după administrarea orală. Se leagă de proteinele plasmatice în proporţie de 80-95%. Principalul său metabolit este acidul 2-propil-glutaric, eliminat ca glucuronoconjugat.

Proprietăţi toxicologice şi mecanism de acţiune. Anticonvulsivantele sunt utilizate în tratamentul simptomatic al epilepsiei a cărei frecvenţă este de 3-6‰. Neuronul, prin activitatea sa, determină o depolarizare a membranei şi emiterea unor impulsuri numite şi curenţi de acţiune, a căror frecvenţă variază în funcţie de starea fiziologică şi de activitatea metabolică a celulei. Activitatea neuronului epileptic constă dintr-o descărcare bruscă, dezordonată şi rapidă (de peste 1.000 impulsuri/secundă), din cauza unor stimulări excesive, consecinţă fie a unor modificări chimice (endogene sau exogene), fie a bombardării lui de un alt factor epileptogen. De asemenea, are loc o hipersincronizare, prin antrenarea progresivă a mai multor neuroni la aceeaşi activitate. Aceste două tipri de activitate reprezintă fenomenul epileptic elementar. Acesta poate rămâne localizat, fără exprimare clinică sau se poate răspândi în masa cerebrală, până la producerea crizei.

Tabloul chimic este în funcţie de originea anatomică a descărcării şi cu posibilitatea ei de a se propaga, rapid sau lent, în substanţă cerebrală. Se cunosc următoarele forme clinice principale:

- crize majore ("grand mal") caracterizate prin cădere, pierderea stării de conştienţă, convulsii tonico-clonice generalizate. Ele corespund descărcărilor electrice dezordonate şi de mare amplitudine, ce cuprind întreg creierul;
- crizele minore ("petit mal"), caracterizate prin scurte absenţe cu descărcări mioclonice şi scăderea tonusului muscular. Există, de asemenea multe forme intermediare.

Fenobarbitalul este eficace în crizele majore, mai puţin în forma psihomotorie, dar este ineficace în crizele minore. Acesta este însă indicat în convulsiile neepileptice. Metabarbitalul, mai sedativ şi mai puţin antiepileptic decât fenobarbitalul, este utilizat în pediatrie. Fenilhidantoinele sunt active în crizele majore şi în epilepsia psihomotorie. Oxazolidindionele dau rezultate bune în crizeleminore, cu ameliorarea clinică şi encefalografică. Succinimidele sunt recomandate în toate formele, cu excepţia crizelor minore. Fenacemida este aplicabilă în epilepsia psihomotorie temporară, dar şi în celelalte forme de epilepsie. Clonazepamul este recomandat în „petit mal", în special în formele cu

componenţa mioclonică; există şi pericolul instalării toleranţei la efectele antiepileptice. Carbamazepina este activă în crizele majore (este însă mai toxică decât fenobarbitalul şi fenitoina), precum şi în unele forme de epilepsie refractare la alte tratamente. Acidul valproic este activ în unele forme de epilepsie, dar mai ales în crizele minore atipice şi în atacurile mioclonice. Efectul sedativ şi reacţiile adverse asupra SNC sunt minime. S-a emis şi ipoteza că acidul valproic intervine în metabolismul acidului gama-aminobutiric (GABA) în creier, prin inhibarea transaminazei acidului gama-aminobutiric sau a dehidrogenazei aldehidei semisuccinice cu creşterea consecutivă a concentraţiei de GABA în regiunile sinaptice.

Fenobarbitalul manifestă, în condiţiile tratamentului de lungă durată din epilepsie, aceleaşi reacţii adverse, dar de intensităţi diferite, ca şi în medicaţia folosită în scop sedativ-hipnotic. Dozele mici folosite în tratamentul anti-epileptic nu conduc la tulburarea funcţiilor respiratorii, renale, hepatice, cardiovasculare. Totodată, tulburările neurologice şi neuropsihice sunt mai puţin intense. În schimb, tulburările digestive apar constant în tratamentul antiepileptic, iar manifestarilealergice pot fi destul de grave, de la erupţii cutanate la nivelul capului la erupţii generalizate, putându-se ajunge la dermatită exfoliativă cu prognostic grav.

Nu se produce toxicomanie la administrarea antiepilepticelor, însă întreruperea bruscă a tratamentului conduce la declanşarea crizelor convulsive, precedate de insomnie, anxietate, agitaţie psihomotorie.

Manifestările neuropsihice au ca mecanism iritaţia toxică directă. Manifestările renale sunt neînsemnate, însă cele hepatice au loc printr-un mecanism alergic. Oxazolidindionele manifestă tulburări digestive, cutanate, renale şi hematologice similare hidantoinei şi de acelaşi ordin de gravitate. Manifestările neuropsihipice sunt mai deosebite şi se manifestă prin somnolenţă, cefalee, ameţeli şi o stare asemănătoare visului.

Anticonvulsivantele prezintă o toxicitate redusă. Doză letală minimă este considerată 5 g pentru hidantoine, oxazolidindione, fenacemida, primidona şi de 10 g pentru succinimide. Experimental s-au stabilit următoarele valori DL_{50} pentru unele anticonvulsivante (după Clarke, 1971):

Compusul	Modul de administrare	DL_{50}, mg/kg
Fenitoina	oral, şoarece	490
Etotoina	oral, şoarece	1750
Etotoina	oral, şoarece	1500
Etosuximida	oral, şoarece	1500

Reacţiile adverse ale pririmidonei sunt de mică importanţă. Manifestările neuropsihice sunt somnolenţa, scăderea capacităţii de judecată şi de concentrare, distartria şi ataxia, prin afectarea căilor celeberoase şi a nucleilor cerebeloşi de către primidonă şi metaboliţii săi (fenobarbitalul). Manifestările cutanate constau în erupţii eritemo-papuloase prin mecanism alergic.

Fenacemida produce tulburări psihice în 15-20% din cazuri, când se observă modificări de personalitate, indiferenţă, apatie, deprimare, idei de sinucidere şi, mai rar, iritabilitate, agresivitate, violenţă.

Unele antiepileptice au efect teratogen. În 1968, Meadow a arătat că gravidele tratate cu hidantoine pot da naştere la copii cu malformaţii. S-a sugerat ca mecanism acţiunea antifolică a anticonvulsivantelor.

Simptomatologie. În intoxicaţia cu hidantoine predomină iritaţia digestivă, uneori hemoragii gastrice, confuzie, halucinaţii, tulburări grave de mers. Oxazolidindionele se manifestă prin cefalee, confuzie, comă cu tulburări respiratorii. Succinimidele au o toxicitate acută redusă. La intoxicaţia cu ureide se observă iritaţie digestivă cu vomismente, stare ebrioasă, disfazie; în absorţia masivă intervine comă cu insuficienţă circulatorie, agitaţie, hipotermie şi uneori acidoză metabolică.

Tratament:

- Spălătură gastrică cu administare orală de apă sau suspensie de cărbune activat, urmată de provocare de vărsături şi purgativ salin;
- Tratamentul insuficienţei respiratorii şi circulatorii acute a edemului pulmonar, reechilibrare hidroelectrolitică şi acidobazică, antibioterapie de protecţie (în comele prelungite), administrare de soluţie de glucoză;
- Diureza osmotică forţată.

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

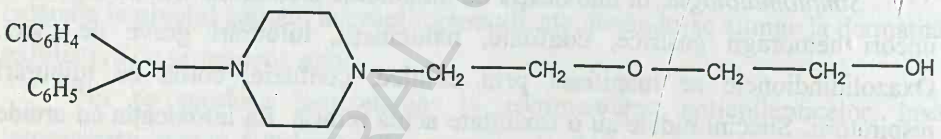
Tranchilizante minore

Unele substanţe împiedică anxietatea, starea tensională şi efectele stresului. Printre primele medicamente utilizate ca sedative, apoi ca hipnotice, au fost bromurile. Înainte de anul 1900, erau cunoscute numai patru medicamente sedativ-hipnotice: cloralhidratul, paraldehida, uretanul şi sulfonalul. La începutul secolului al XX-lea, au apărut barbituricele care au înlocuit bromurile, deoarece acestea sunt toxice cumulative asupra SNC. Din deceniul al V-lea s-au sintetizat sedative mai puţin nocive şi care nu produc toleranţă. Astfel, meprobamatul a deschis calea unor noi tipuri de barbiturice. S-au mai sintetizat benzodiazepinele, clordiazepoxidul şi diazepamul, într-o primă fază, urmată de alţi 2000 de compuşi, dintre care peste 100 au fost testaţi pentru activitatea tranchilizantă sau alte acţiuni terapeutice.

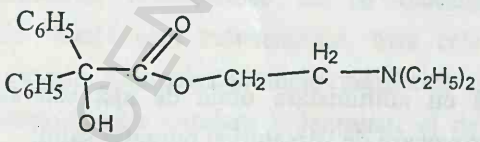
Structura chimică. Se disting trei grupe de tranchilizante cu următorii reprezentanţi:

1. Derivaţi de difenilmetan

- *Hidroxizina* (Atarax, Placidol, Vistaril), 1-(para-clorbenzhidril-4,2-hidroxietoxi)-etilpiperazină:

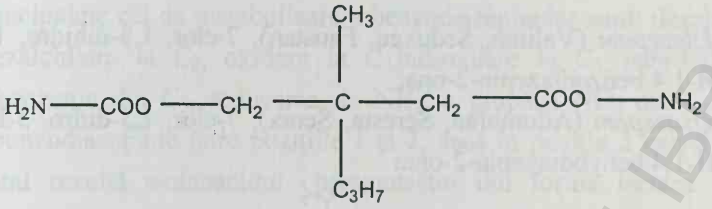


- *Benactizina* (Nervatil, Procalm, Suavitil, Parason, Cafron, Nutinal, Amizil, Levanol), benzilat de 2-dietilaminoetil:



2. Derivaţi carbamici cu alcooli alifatici

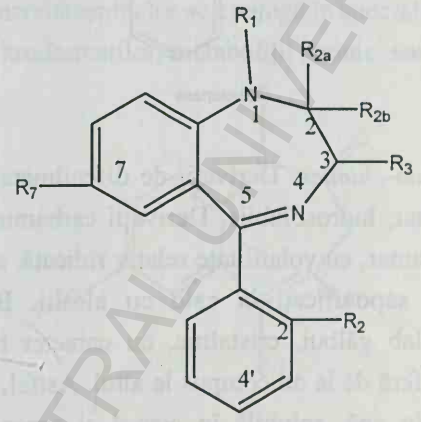
- *Meprobamat* (Carbaxin, Equanil, Miltown, Procalmadiol, Andaxin, Meproton, Sextran), 2-metil, 2-n-propil,1,3-propandioldicarbamat:



- *Carisoprod* (Apesan, Carisol, Miolisodol, Somanil, Relax) se deosebeşte de meprobamat prin înlocuirea unui hidrogen din gruparea -NH_2 cu un izopropil;

- *Tibamat* (Solacen, Tyabatran) are un hidrogen din -NH_2 înlocuit cu n-butil.

3. Benzo-(f)-diazepinele 1,4, care au formula generală de mai jos:



în care:

- R_7 poate fi o grupare atrăgătoare de electroni care îi măreşte activitatea sau o grupare respingătoare de electroni care îi scade activitatea.

- Substituentul R_2 nu este obligatorie, însă o grupare atrăgătoare de electroni accentuează activitatea moleculei;

- În poziţiile 1,2,3, subtituenţii pot fi diferiţi;

- O densitate de electroni scăzută la N_4 este comună benzodiazepinelor active.

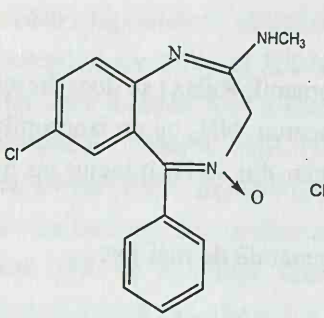
Dintre benzodiazepine, mai cunoscute sunt:

- *Clordiazepoxidul* (Napoton, Librium, Elenium), 7-clor, 2-metilamino, 5-fenil, 3,H-1,4 benzodiazepin-4-oxidul;

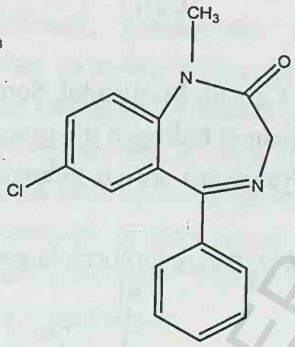
BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

- *Diazepam* (Valium, Seduxen, Faustan), 7-clor, 1,3-dihidro, 1-metil, 5-fenil, 2-H-1,4 benzodiazepin-2-ona;

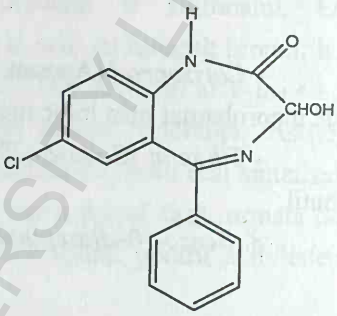
- *Oxazepam* (Adumbran, Seresta, Serax), 7-clor, 1,3-didro, 3-hidroxi, 5-fenil, 2-H-1,4 benyodiayepin-2-ona:



Clordiazepoxid



Diazepam



Oxazepam

Proprietăţi fizico-chimice. Derivaţii de difenilmetan sunt substanţe albe, cristaline, cu gust amar, hidrosolubile. Derivaţii carbamici sunt substanţe albe, cu miros slab şi gust amar, cu volatilitate relativ ridicată, stabili în mediu acid şi alcalin la rece, dar saponificaţi la cald cu alcalii. Benzodiazepinele sunt substanţe albe sau slab gălbui, cristaline, cu caracter bazic. Solubilitatea în solvenţii cunoscuţi diferă de la un compus la altul. Astfel, hidroxizina clorhidrat este foarte solubilă în apă, solubilă în etanol şi aproape insolubilă în eter. Diazepamul este insolubil în apă, însă uşor solubil în cloroform. Nitrazepamul este insolubil în apă şi eter, dar este solubil în etanol şi cloroform. De asemenea, oxazepamul este aproape insolubil în apă, solubil însă în solvenţi organici.

Etiologia intoxicaţiilor. Frecvenţa intoxicaţiilor accidentale este destul de ridicată, însă majoritatea intoxicaţiilor au loc în scop de sinucidere.

Toxicocinetică. Tranchilizantele se absorb uşor din intestin, apoi se leagă de proteinele plasmatice. Derivaţii difenilmetanici sunt rapid metabolizaţi şi excretaţi. La carbamaţi, biotransformarea nu afectează funcţia carbamat, foarte stabilă, ci catenele laterale. La meprobamat, radicalul propil este oxidat la C_2 (cu formare de alcool secundar, apoi cetonă) sau la C-terminal, cu formare de acid care se conjugă.

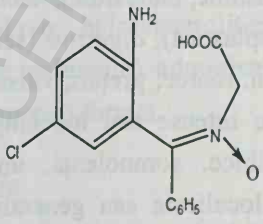
BCU IAŞI CENTRALA UNIVERSITY LIBRARY

Principalele căi de metabolizare a benzodiazepinelor sunt: dezalchilare la C_1, N-dezalchilare la C_2, oxidare la C_2,hidroxilare la C_3, para-hidroxilarea ciclului benzenic din C_5, reducerea, la NH_2, a grupării NO_2 din C_7, ruperea ciclului benzodiazepinic între poziţiile 1 şi 2, dacă în poziţia 2 există gruparea C=O, când rezultă aminoacidul corespunzător din forma lactam. În cazul clordiazepoxidului se obţin metaboliţii lactam şi lactam deschis corespunzători.

Benzodiazepinele prezintă multiple căi de metabolizare, de unde şi numărul mare de metaboliţi. Oxazepamul şi clorazepamul nu suferă metabolizare şi se elimină sub formă conjugată. Clorazepamul, inactiv ca atare, este transformat pe cale neenzimatică, prin decarboxilare şi deshidratare în sucul gastric, într-un metabolit activ: diazepam-N-dezalchilat.

Metaboliţii benzodiazepinelor se conjugă în special cu acid glucuronic. În cazul 7-nitroderivaţilor, metaboliţii aminici sunt acetilaţi.

Lactam,activ farmacologic



Aminoacid(lactam deschis),inactiv farmacologic

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Proprietăţi toxicologice. Mecanism de acţiune. Tranchilizantele minore sunt deprimante ale SNC. Somnul se instalează ca urmare a liniştirii subiectului, căci aceste substanţe nu sunt hipnotice (cu excepţia nitrazepamului, flurazepamului şi flunitrazepamului). Sunt medicamente indicate în nevroze, dar nu şi în psihoze.

Tranchilizantele acţionează subcortical, la nivelul substanţei reticulate ascendente şi asupra hipotalamusului, deci la nivelul formaţiunilor responsabile de procesele de integrare a senzaţiilor şi de control al emoţiilor. Mecanismul de acţiune a tranchilizantelor constă în scăderea intensităţii fosforilării oxidative, având ca rezultat: reducerea concentraţiei de ATP din creier, mărirea concentraţiei acetilcolinei libere din creier, scăderea vitezei de metabolizare a noradrenalinei şi a serotoninei, creşterea concentraţiei acidului gama-aminobutiric (GABA).

Tranchilizantele au o acţiune antispastică, exercitată atât prin relaxarea fibrei musculare netede, cât şi prin suprimarea controlului tonic parasimpatic şi sunt indicate, de aceea, în tratamentul spasmelor musculaturii netede uterine şi bronşice. Unele tranchilizante sunt folosite în tratamentul epilepsiei. Câteva au acţiune antihistaminică. Multe tranchilizante sunt utilizate în mod abuziv de către oameni sănătoşi pentru reducerea unor traume psihice.

Toxicitatea tranchilizantelor este de regulă redusă, de ordinul gramelor/kilocorp. Pentru meprobamat, doza minimă toxică este de 4-6 g, iar doza minimă letală de 15-20 g. Principalele reacţii adverse la utilizarea tranchilizantelor sunt *cardiovasculare* (hipotensiune, tahicardie); *hematologice* (leucopenie, trombocitopenie, uneori anemie aplastică); *digestive* (senzaţie de uscăciune a mucoasei bucale, creşterea apetitului, diaree, greţuri, vărsături sau întârzierea tranzitului intestinal după tratamente intense sau îndelungate); *neuropsihice* (deprimarea activităţii fizice şi psihice, somnolenţă, uneori necoordonare motorie); *cutanate* (erupţii diferite, localizate sau generalizate, produse prin mecanism alergic); *oculare* (creşterea tensiunii intraoculare, tulburări de acomodare) etc.

Fenomene de dependeţă. Obişnuiţa, dependenţa fizică, cumularea, inpregnarea, abstinenţa sunt fenomene ce apar în cazul unor tratamente îndelungate cu tranchilizante. Obişnuinţa conduce la creşterea treptată a dozelor şi este atribuită adaptării celulare la medicament, ca şi creşterii capacităţii de

biotransformare, în special a stimulării activităţii metabolice hepatice. Dependeţa fizică este mai rară, deoarece aceste substanţe au o acţiune euforizantă minimă. Cumularea, cu apariţia fenomenelor toxice similare supradozării, este consecinţa depăşirii capacităţii de biotransformare, precum şi a eliminării lente a tranchilizanţilor. Impregnarea se manifestă prin tulburări de coordonare, mers ebrios, senzaţie de cedare a articulaţiilor genunchiului, fără ca examenul nuerologic să indice date anormale. Sindromul de abstinenţă apare la întreruperea bruscă a tratamentului şi constă din insomnie, nelinişte, iritabilitate sau stări depresive, tremor al extremităţilor, tresăriri musculare, scăderea apetitului etc.

Simptomatologie. Intoxicaţia acută cu meprobamat se caracterizează prin somnolenţă, stare ebrioasă, hipotonie musculară, reflexe osteotendinoase scăzute, midriază, stare care poate fi urmată, când doza ingerată a depăşit 10 g, de comă, în general liniştită şi superficială, cu reflexe tendinoase şi pupilare absente.

Riscul major în intoxicaţia acută este reprezentat de tulburările circulatorii acute, uneori mortale. Convalescenţa este de lungă durată. Similar se comportă şi derivaţii de difenilmetan. Intoxicaţia cu bezodiazepine este mai puţin gravă, cu accentuarea simptomatologiei specifice reacţiilor adverse.

Tratament.

- Spălătură gastrică sau administrare orală de apă sau suspensie de cărbune activat, urmată de provocare de vărsături şi purgativ salin;
- Tratamentul insuficienţei respiratorii şi circulatorii acute a edemului pulmonar, reechilibrare hidroelectrolitică şi acido-bazică, antibioterapie de protecţie (în comele prelungite), administrare de soluţii de glucoză;
- Diureză osmotică forţată.

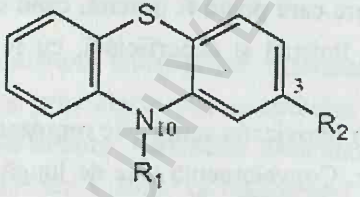
Neurolepticele

Dintre acestea, fenotiazina a fost sintetizată în 1883 şi utilizată iniţial ca antihistaminic. După 1950, când a fost sintetizată clorpromazina, au fost recunoscute proprietăţile neuroleptice ale unor derivaţi fenotiazinici. În prezent, sunt utilizate în psihiatrie peste 30 de fenotiazine, 20 de butirofenone şi 6 tioxantene.

BCU MS / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

1. Fenotiazinele. Nucleul de bază este fenotiazinic, iar activitatea neuroleptică presupune următoarele caracteristici structurale:

- Existenţa unui atom de sulf în moleculă;
- Radicalul R_2 din pozitia 3 este facultativ, are structură diversă, iar activitatea neuroleptică descreşte în ordinea: $-OCH_3$, $-SCH_3$, $-COOCH_3$, $-Cl$, $-CF_3$, $-SO_2$, $-N(CH_3)_2$;
- Radicalul R_1 din poziţia 10 este obligatoriu şi conţine întotdeauna un atom de azot terţiarşi o catena cu trei atomi de carbon. O catenă de numai doi atomi de carbon imprimă activitate antihistaminică (Prometazina, $R_1 = (CH_2)_3-N(CH_3)_2$), iar o catenă de patru atomi de carbon micşorează sau anulează activitatea neuroleptică.



Fenotiazine

Exemple de compuşi fenotiazinici:

Promazina: R_1, $-(CH_2)_3-N(CH_3)_2$; R_2, H;

Clorpromazina: R_1, $-(CH_2)_3-N(CH_3)_2$; R_2, Cl;

Levomepromazina: R_1, $-CH_2-CH(CH_3)-N(CH_3)_2$; R_2, OCH_3;

Dependent de natura radicalului R_1, fenotiazinele se clasifică în:

Fenotiazine demetilaminoalchilice, care determină somnolenţă pronunţată, dar care prezintă reacţii adverse minore;

Fenotiazine piperazil-alchilice, neuroleptice mai puternice, cu efect antiemetic, dar cu reacţii adverse puternice (efecte extrapiramidale intense);

Fenotiazine piperidil-alchilice, utilizate în special în schizofrenie şi în reducerea agresivităţii şi iritabilităţii şi care sunt de regulă bine suportate.

2. Tioxantene. Nucleul tioxantenic diferă de cel fenotiazinic prin înlocuirea atomului de azot din poziţia 10 cu unul de carbon. Tioxantenele sunt neuroleptice mai active decât fenotiazinele, au efecte antiemetice, hipoterizante, sunt

BUCHAREST CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

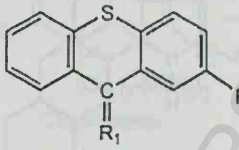
uneori analgezice şi sunt în general mai bine tolerante. Dubla legatură C=R_1 le conferă izometrie *cis-trans*, izomerii *cis* fiind mai activi farmacologic.

Cele mai utilizate tioxantene sunt:

Clorprotixena (Taractan), analogul clorpromazinei;

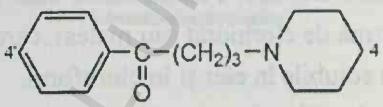
Flupentizolul (Fluanxol), analogul flufenazinei;

Tiotixena (Navane), analogul tioproperazinei.



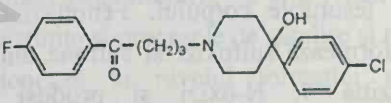
Tioxantene

3. Butirofenonele se aseamană structural cu acidul gama-aminobutiric (GABA). Acestea conţin un atom de F in pozitia 4' şi diferite grupări în poziţia 4. Au acţiuni neuroleptice, dar şi efecte analgezice şi antiemetice:

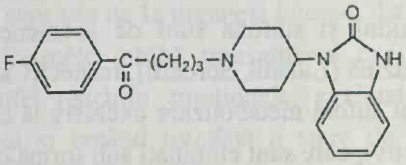


Cele mai cunoscute sunt:

Haloperidolul (Haldol, Serenase), neuroleptic cu acţiune sedativă şi antihalucinogenă;



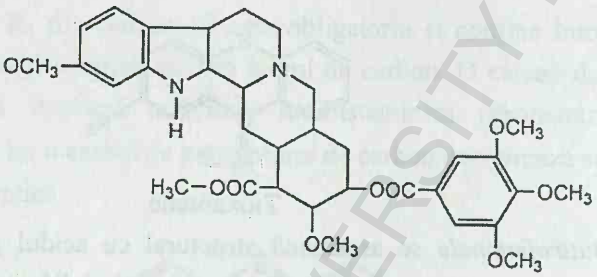
Droperidolul (Dehidrobenzperidol, Droleptan), un alt neuroleptic activ.



4. Alcaloizii din Rauwolfia. În rădăcinile arbustului Rauwolfia (familia Apocynacee), care creşte în regiunile tropicale şi subtropicale, se găsesc cel puţin 50 de alcaloizi, dintre care cel mai important este rezerpina. Extractele de

BCU IASI CENTRALA UNIVERSITY LIBRARY

Rauwolfia (după numele botanistului Rauwolf) erau utilizate împotriva stărilor nervoase încă din Antichitate. Sunt de asemenea cunoscute efectele sale hipotensive. Nucleul indolic se găseşte şi la alţi alcaloizi psiholeptici sau psihodisleptici. Prezenţa grupării trimetoxibenzoil nu contribuie la activitatea terapeutică.



Rezerpina

Proprietăţi fizico-chimice. Fenotiazinele sunt substanţe albe, cristalizate. Sunt utilizate sub formă de clorhidrat sau maleat, care sunt săruri solubile în apă şi în etanol, dar greu solubile în eter şi în cloroform.

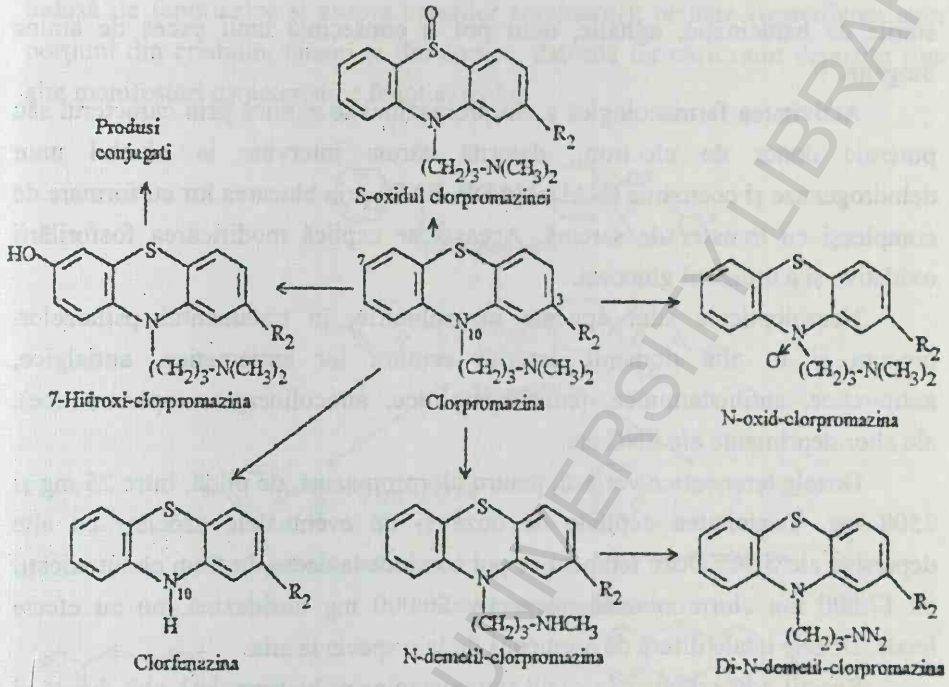
Etiologia intoxicaţiilor. Intoxicaţiile survin prin supradozare, accidental şi intenţional în scop de sinucidere, mai ales în asociere cu barbiturice, antihistaminice sau alcool.

Toxicocinetică. Neurolepticele se absorb rapid pe cale orală şi se distribuie în toate ţesuturile corpului. Fenotiazinele suferă biotransformări intense. Astfel, se formează sulfoxizi şi sulfone din sulful intraciclic, derivaţi hidroxilaţi în pozitia 7, N-oxizi şi produşi demetilaţi rezultaţi din biotransformarea catenelor laterale. Din clopromazină rezultă aproximativ 168 de metaboliţi care se elimină ca atare sau sub formă conjugată.Dintre metaboliţii tioridazinei, sulfoxidul şi sulfona sunt de asemenea neuroleptici activi sub numele de mesoridazină (Lidanil, Serentil), respectiv sulforidazină.

Haloperidolul suferă metabolizare exclusiv la catenă, rezultând următorii metaboliţi, toţi inactivi, care sunt eliminaţi sub formă conjugată.

Eliminarea metaboliţilor neurolepticilor este lentă. Astfel, după două săptămâni sau chiar luni după încetarea tratamentului cu clopromazină, aceasta a fost găsită în urină, alături de metaboliţii săi.

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY



Principalii metaboliți ai clorpromazinei

Proprietăți toxicologice. Neurolepticele au o acțiune sedativă, de liniștire psihică, cu scăderea activității psihomotorii, ca și a reactivității emoționale și afective. Ele nu tulbură conștiința și procesele de gândire și nu produc narcoză.

Neurolepticele acționează la nivelul formației reticulare, structura nervoasă din trunchiul cerebral care exercită în permanență o acțiune stimulatoare asupra centrilor corticali. Formația reticulară selectează excitațiile primite de la organele de simț sau de la organele interne, determinând o stare de „trezire corticală". Fenotiazinele inhibă transmiterea excitațiilor în formația reticulară și frânează astfel reacțiile emoționale, anxietatea etc., diminuând tonusul funcțional cortical și creând totodată o stare de indiferență față de excitațiile mediului ambiant. Astfel, fenotiazinele interferă cu activitatea normală a aminelor biogene din creier (serotonina și catecolaminele). Stările de depresie și apatie pot fi datorate scăderii concentrației lor din creier și invers,

BCU IAȘI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

stările de halucinaţie, agitaţie, delir pot fi consecinţa unui exces de amine biogene.

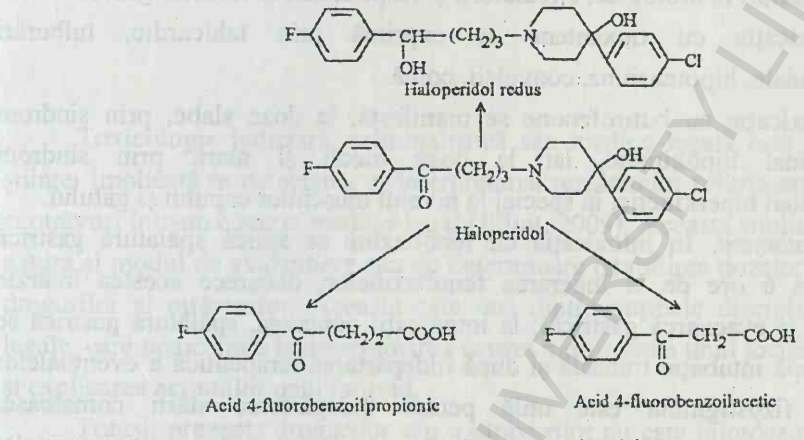
Activitatea farmacologică a clorpromazinei se explică prin caracterul său puternic donor de electroni, datorită căruia intervine la nivelul unor dehidrogenaze şi coenzime (NAD, NADP, FAD) prin blocarea lor cu formare de complecşi cu transfer de sarcină. Aceasta ar explică modificarea fosforilării oxidative şi a utilizării glucozei.

Neurolepticele sunt aplicate în psihiatrie, în tratamentul psihozelor, precum şi în alte domenii datorită acţiunii lor antiemetice, antialgice, antipiretice, antihistaminice, parasimpatolitice, anticolinergice (spasmolitice), ale altor deprimante ale SNC etc.

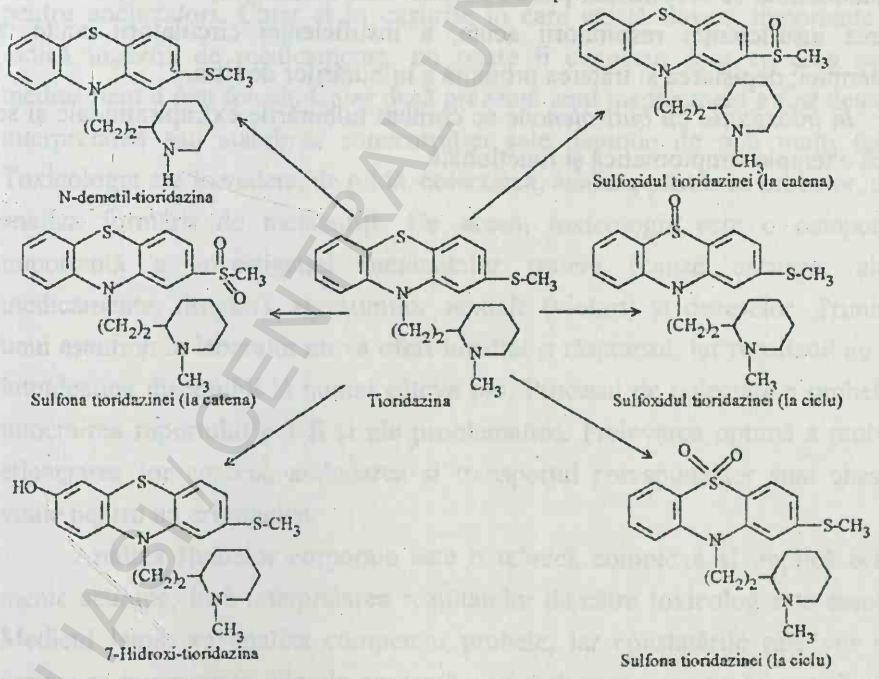
Dozele terapeutice variază, pentru clorpromazină, de pildă, între 25 mg şi 2500 mg. Toxicitatea depinde de doză şi de eventualele asocieri cu alte depresive ale SNC. Doze terapeutice pot conduce la deces, în timp ce intoxicaţii cu 17.000 mg clorpromazină, respectiv 20.000 mg tioridazină, nu au efecte letale. Dozele letale diferă de asemenea de la o specie la alta.

Reacţii adverse apar în cazul tratamentelor psihiatrice de lungă durată şi cu doze ridicate. Tulburările pot fi digestive (uscăciune a mucoasei bucale prin înhibarea secreţiei salivare, întârzierea tranzitului intestinal, dureri, greţuri, în ciuda acţiunii lor antiemetice, vărsături, afectarea florei intestinale); cardiovasculare (hipotensiune, putând conduce la lipotimie şi chiar la colaps, prin deprimarea specifică fenotiazinelor a SNC şi prin tulburări de coagulare şi fragilitate capilară; tahicardie, adesea percepută numai subiectiv; tromboembolii, consecinţa scăderii debitului circulator la nivel cerebral, pulmonar, cardiac, ca urmare a hipotensiunii şi a tahicardiei; tromboflebite; neurologice (sindrom parkinsonian, expresie a dereglărilor extrapiramidale, manifestat prin contracţie musculară, bradikinezie, tremor al capului şi membrelor); cutanate (erupţii de diferite forme, edeme angioneurotice, dermite de contact, toate expresie a sensibilizării organismului la fenotiazine. O altă manifestare este eritemul solar localizat sau generalizat, datorat capacităţii fenotiazinelor, în special clorurate, de a se fixa electiv la nivelul tegumentelor, unde concentrează energia solară luminoasă). Tulburările hepatice (icter prin colestază, urmare a obstrucţiei biliare intrahepatice); hematologice (afectează numai seria albă şi sunt de natură alergică şi toxică); respiratorii (deprimare, rezultat al extinderii deprimării

indusă de fenotiazine şi asupra centrilor respiratori); oculare (opacifierea unor porţiuni din cristalin, uneori şi din cornee, datorită formării unor depozite sunt alte manifestări caracteristice fenotiazinelor.



Metabolizarea haloperidoluhui



Metabolizarea tioridazinei

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Simptomatologie. Intoxicaţia cu fenotiazine se manifestă prin:

- prin uscăciunea mucoasei bucale, ameţeli, tahicardie, tulburări de vedere, tremur, dezorientare, somnolenţă, hipotensiune moderată;
- tulburări neurologice, circulatorii şi respiratorii, în formele grave.

Intoxicaţia cu tioxantene se exprimă prin tahicardie, tulburări extrapiramidale, hipotensiune, convulsii, comă.

Intoxicaţia cu butirofenone se manifestă, la doze slabe, prin sindrom extrapiramidal hipokinetic, iar la doze medii şi mari, prin sindrom extrapiramidal hiperkinetic, în special la nivelul muşchilor capului şi gâtului.

Tratament. În intoxicaţia cu fenotiazine se aplică spălatură gastrică (chiar după 6 ore de la ingerarea fenotiazinelor, deoarece acestea întârzie motilitatea şi evacuarea gastrică); la intoxicaţii comatoşi, spălătura gastrică se practică după intubaţie traheală şi după îndepărtarea terapeutică a eventualelor convulsii; fizostigmina este utilă pentru îndepărtarea stării comatoase; difenhidramina se recomandă pentru ameliorarea fenomenelor extrapiramidale; tratarea insuficienţei respiratorii acute, a insuficienţei circulatorii acute, a hipotermiei; depistarea şi tratarea promptă a tulburărilor de ritm.

În intoxicaţia cu butirofenone se combat tulburările extrapiramidale şi se aplică o terapie simptomatică şi funcţională.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

8. Toxicologia medico-legală

Toxicologia judiciară, criminalistică sau medico-legală este o ramură a ştiinţei implicată în detectarea şi interpretarea rezultatelor referitoare la droguri şi otrăvuri într-un context medico-legal (Elliot, 2009). Aceasta studiază efectele, natura şi modul de evidenţiere sau de determinare (stabilirea dozelor acestora) a drogurilor şi otrăvurilor. Aceasta este una dintre puţinele discipline medico-legale, care poate ajuta la determinarea cauzei morţii sau a unui incident, precum şi explicarea acţiunilor unui individ.

Totuşi, prezenţa drogurilor sau a otrăvurilor nu este întotdeauna evidentă pentru anchetatori. Chiar şi în cazurile în care există dovezi importante care indică ingestia de medicamente, nu poate fi cunoscut uşor ce drog sau ce medicament a fost folosit. Chiar dacă prezenţa unui medicament a fost detectată, interpretarea sau stabilirea concentraţiei sale depinde de mai mulţi factori. Toxicologia are în vedere, de pildă, colectarea, analiza, păstrarea probelor, dar şi analiza formării de metaboliţi. De aceea, toxicologia este o componentă importantă a investigaţiei incidentelor rutiere (cauze ascunse: alcool, medicamente, droguri), agresiunilor sexuale (violuri) şi deceselor. Trimiterea unui eşantion la laborator nu va oferi imediat şi răspunsul, iar rezultatul nu va fi întotdeauna disponibil în numai câteva ore. Procesul de colectare a probelor şi întocmirea raportului pot fi şi ele problematice. Prelevarea optimă a probelor, etichetarea lor corectă, ambalarea şi transportul corespunzător sunt chestiuni vitale pentru un criminalist.

Analiza fluidelor corporale este o tehnică complexă şi implică echipamente scumpe, însă interpretarea rezultatelor de către toxicolog este esenţială. Medicul legist va analiza competent probele, iar constatările sale vor fi de asemenea interpretate. Simpla prezenţă a unui drog în corp nu înseamnă nimic, fără analiza concentraţiilor, transformărilor posibile, limitelor legale etc., poate lămuri dacă a fost o intoxicaţie, o sinucidere sau un alt eveniment nefast. Astfel,

BUCHAREST UNIVERSITY LIBRARY

în Regatul Unit un pilot de avion nu poate depăşi limita de 0,2 g/L alcool în sânge, în timp ce în România, consumul de alcool este interzis pentru simplii şoferi.

Formularea unei cauze de deces în instanţa de judecată este problema anatomo-patologului, dar un raport toxicologic de calitate este, în multe cazuri, esenţial. Evident, un manual de toxicologie nu te transforma într-un expert în toxicologie medico-legală. Este nevoie de o practică îndelungată în laborator, alături de un toxicolog experimentat şi, mai ales de studiul numeroaselor cazuri rezolvate în domeniu.

Dintre cazurile juridice care necesită expertiză toxicologică, mai importante sunt următoarele: 1) decesul brusc/suspect (supradoză sau intoxicaţie, spânzurare, foc de armă, foc, fum, solvenţi, înec, căderi/lunecări); 2) traficul rutier (analiza accidentelor cu conducători auto şi/sau pasageri, de exemplu, cu pasageri care au distras atenţia conducătorului auto; alcoolul şi medicamentele în accidente rutiere); 3) anchetele penale (victime decedate sau suspecţii pot necesita investigaţii toxicologice care să determine, de exemplu, starea de spirit în momentul crimei); 4) violuri şi atacuri sexuale sub influenţa drogurilor (analiza sângelui şi/sau urinei victimei pentru a determina prezenţa sau absenţa drogurilor şi alcoolului); 5) decese/intoxicaţii ale animalelor (accidentale sau criminale).

Toxicologia judiciară reprezintă aplicarea toxicologiei şi a unor ştiinţe înrudite, cum ar fi chimia analitică, farmacologia şi chimia medicală la investigaţia decesului, otrăvirii sau a folosirii drogurilor. Importantă este investigaţia toxicologică, utilizarea metodelor şi tehnicilor de lucru pentru obţinerea şi interpretarea rezultatelor şi, mai puţin, aspectul legal. Toxicologul judiciar este interesat de studiul urmelor de la scena unei crime, dovezile fizico-chimice, existenţa pulberilor, a urmelor şi a oricărei substanţe chimice. Acesta determină ce substanţe chimice sunt prezente, în ce concentraţie şi care este efectul probabil asupra unei persoane. Determinarea unei substanţe ingerate este complicată de procesele de metabolizare şi diluare în corp. În cadrul cercetărilor se prelevează şi analizează probe de urină, de sânge, de păr, de fluide orale etc.

Toxicologia judiciară studiază prezenţa substanţelor toxice şi a drogurilor în ţesuturile şi fluidele corpului. Toxicologul analizează fluidele biologice şi

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

ţesuturile victimelor care se presupune că au fost otrăvite accidental sau intenţionat.

Cunoaşterea proprietăţilor otrăvurilor este necesară pentru a înţelege mecanismele de acţiune toxică care conduc la leziuni biochimice sau la alterări histologice şi pentru stabilirea metodologiei de analiză. De asemenea, izolarea, identificarea şi dozarea substanţelor toxice sunt necesare atât pentru scopuri criminalistice, în caz de deces, dar şi pentru supravegherea mediului (aer, apă, alimente), cât şi pentru stabilirea circuitului substanţelor toxice în organism.

Combaterea simptomelor de otrăvire presupune tratarea lor, precum şi elaborarea de măsuri profilactice şi stabilirea concentraţiilor maxime admisibile. Otrăvurile pot fi produse şi de plante (alcaloizi, glicozizi), de animale (ptomaine, veninuri), de mucegaiuri (micotoxine) etc.

Toxicologul, spre deosebire de chimistul criminalist, se ocupă în primul rând de materialele biologice şi poate detecta otrăvuri în sânge, urina, lichidul cefalorahidian, conţinutului gastric, bilă şi ţesuturi.

Grupe de otrăvuri

În investigarea unui caz de otrăvire este necesară mai întâi izolarea şi identificarea otrăvii de către toxicolog. Astfel, toxicologii criminalişti clasifică otrăvurile pe grupe, în funcţie de metoda utilizată pentru a izola substanţele din ţesuturile sau din fluidele corpului.

Grupa I: Gaze. Majoritatea gazelor de importanţă toxicologică nu sunt detectabile în probele prelevate pentru autopsie.

Grupa II: Vapori de otrăvuri volatile. Compuşii din această grupă sunt izolaţi prin distilare cu vapori. Proba (sânge, urină sau omogenatul tisular) se acidulează cu acid clorhidric sau se alcalinizează cu oxid de magneziu solid. Otrăvurile distilabile dintr-un mediu acid includ tetraclorura de carbon, cloroform, etanol, cianuri, metanol, fenoli, nitrobenzeni şi fosfor galben.

Grupa III: Otrăvuri metalice. Metalele sunt izolate din ţesut prin distrugerea tuturor compuşilor organici conţinuţi în ţesut.

Grupa IV: Otrăvuri organice nevolatile. Acest grup conţine astăzi cele mai multe dintre medicamentele de interes pentru toxicologi.

Grupa V: Otrăvuri diverse. Această grupă include toate otrăvurile neclasificate în ultimele patru grupe. Substanţele incluse în această grupă sunt

BCU IASI - CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

anioni anorganici, ioni organici foarte uşor solubili în apă şi compuşi organici insolubili în apă sau alcool.

Cercetarea criminalistică a otrăvirilor

În general, crima cu otravă este comisă în cadrul unei familii sau într-un grup de aproapiaţi. Asasinul foloseşte, în principiu, unele otrăvuri care nu pot trezi suspiciuni datorită culorii, mirosului sau gustului acestora. Uneori se semnalează şi omorul sau tentativa de omor prin folosirea de gaze toxice, de exemplu, cu monoxid de carbon.

Confirmarea cazului de moarte prin otrăvire se realizează prin colaborare între medicul legist şi toxicolog. Rareori cercetarea la faţa locului aduce dovezi fizice care indică faptul că moartea a fost cauzată de ingestia unor substanţe otrăvitoare. Stabilirea cauzei decesului revine personalului medical calificat, medicului legist sau anatomopatologului. Otrăvirea, ca şi cauză a decesului, poate fi dovedită numai prin analiză toxicologică.

Probele fizice aflate la locul crimei şi examinarea sumară a decedatului pot indica uneori un caz de otrăvire. Patologul poate recunoaşte efectele anumitor otrăvuri la autopsie. Astfel acizii tari şi bazele pot provoca arsuri extinse în jurul gurii sau pe suprafaţa corpului, cu distrugerea severă a ţesuturilor interne. Dovezi, cum ar fi droguri, narcotice, marcaje pe corp sau prezenţa acizilor sau a substanţelor caustice pot conduce la ipoteza otrăvirii. Mirosurile de amoniac sau migdale amare pot indica anumite otrăvuri. De pildă, în intoxicaţia cu cianură, faţa este de culoare roşiatică.

Unele medicamente, alcaloizii din opiu şi nicotina pot cauza contracţia pupilelor, în timp ce altele, cum ar fi atropina produc dilatarea. Stricnina determină convulsii, colţurile gurii fiind ridicate, iar faţa este rigidizată într-un rânjet.

Diferite materiale colorate aflate în vomă pot indica tipul de otrăvire. Astfel, culoarea maro asemănătoare cu zaţul de cafea indică o otrăvire cu baze tari, cum ar fi de hidroxidul de sodiu sau potasiu; galbenul conduce la acid azotic şi acizii cromului; albastru-verde la sulfat de cupru; negru, la acid sulfuric, iar culoare verde-maro sugerează înghiţirea de acid clorhidric. O vomă cu miros ascuţit indică o otrăvire cu amoniac sau cu acid acetic.

Cele mai cunoscute substanţe otrăvitoare sunt:

BCU IAŞI / CENTRUL UNIVERSITAR LIBRARY

- Otrăvurile lichide şi gazoase, cum ar fi monoxidul de carbon, acidul cianhidric, freonul, metanolul, toluenul, benzenul, gazolina şi cloroformul;
- Metalele grele şi alte otrăvuri anorganice;
- Drogurile ilicite, medicamentele aflate în regim special şi băuturile spirtoase. Unele medicamente pot fi găsite în asociere cu altele asemenea sau cu alcool. Grupa de astfel de substanţe cuprinde alcoolul etilic, barbituricele, heroina, opiaceele sintetice, cum ar fimetadona, fenciclidină (phencyclidine, PCP), tranchilizantele minore, cum ar fi Valium, Librium, meprobamatul sau medicamentele cu regim special, atunci când sunt luate în exces;
- Unele otrăvuri animale şi vegetale: atropină, cocaina, nicotina, scopolamina, stricnina şi veninul deşarpe;
- Otrăvuri bacteriene şi intoxicaţii alimentare (botulism).

Otrăvirea accidentală

Cele mai multe intoxicaţii accidentale au loc în casă. Copiii pot avea acces şi chiar pot ingera medicamente, pesticide şi detergenţi de uz casnic. Intoxicaţia accidentală la adulţi poate fi rezultatul etichetării greşite sau a depozitării unei substanţe toxice într-un alt recipient decât cel original. De multe ori se depozitează otravă pentru rozătoare şi verde de Paris în sticle de băutură ! Arsenicul, buruienile otrăvitoare, stricnina, cianurile, soluţiile de curăţare şi numeroase alte otrăvuri letale au fost cu nerăbdare şi din greşeală băute din ulcioare de cidru şi sticle de whisky sau rachiu vechi.

Intoxicaţiile accidentale din industrie sunt urmarea neglijenţei sau a unor întâmplări nefericite, care expun lucrătorii la substanţe toxice. În timp ce posibilitatea de otrăvire accidentală în industrie este mare, standardele de siguranţă şi reglementările şi disponibilitatea serviciilor medicale de urgenţă din prezent împiedică industria să constituie sursa a multe intoxicaţii fatale.

Decese cauzate de abuzul de droguri

Abuzul de droguri poate implica utilizarea de drogurii legale, cum ar fi heroina; consumul de droguri interzise sau controlate, cum ar fi cocaina, barbituricele şi amfetamina sau utilizarea de produse chimice în alt mod decât cel prescris, deci contrar destinaţiei lor, cum ar fi inhalarea de solvenţi şi produse volatile.

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Consumul de alcool este cea mai mare problemă a drogurilor în SUA şi în toată lumea. Alcoolul joacă, de asemenea, un rol important în decesele violente.

Dovezi circumstanţiale de otrăvire

Ancheta toxicologică a unei morţi prin otrăvire poate fi împărţită în trei etape:

1. Realizarea studiilor de caz şi obţinerea a probelor (dovezilor) adecvate;
2. Analizele toxicologice;
3. Interpretarea rezultatelor analizelor.

Stabilirea cauzei de deces drept otrăvire se poate face numai prin autopsie şi analiză chimică. Într-un număr de cazuri de intoxicaţii, aspectul persoanei decedate sau circumstanţe special în legătură cu moartea poate conduce la aflarea cauzei decesului.

Trebuie, de asemenea, căutate, în primul rând, la locul incidentului otrăvurile reziduale, sub formă de comprimate, pulbere, sau reziduuri în flacoanele de medicamente. De asemenea, se vor căuta ambalajele, prafurile, cutiile aruncate şi alte recipiente (tuburi, fiole, flacoane). Toate indiciile trebuie recuperate şi ambalate separat, într-un tub sau într-un plic. Atunci când persoana decedată se găseşte în pat, trebuie examinată foarte atent lenjeria de pat deoarece poate conţine otravă sub formă de pulbere, dar şi alte substanţe deversate, greu de detectat.

Atunci când moartea nu se datorează otrăvirii, toxicologul criminalist poate oferi, de asemenea, dovezi cu privire la împrejurările în care a avut loc un deces. Comportamentul de conducere haotică a victimelor accidentelor auto este adesea explicat prin prezenţa alcoolului în sânge sau în ţesuturi. Medicamentele psihoactive, cele care afectează comportamentul, joacă adesea un rol semnificativ în împrejurări asociate cu moartea subită sau violentă. Detectarea alcoolului, a narcoticelor, a halucinogenelor sau a altor medicamente pot susţine depoziţiile martorilor cu privire la comportamentul agresiv, incoerent, sau iraţional al răposatului în momentul unui incident fatal. În schimb, rezultatele toxicologice negative pot spulbera suspiciunea consumului de droguri a răposatului. Concluziile negative sunt, de asemenea, semnificative la persoanele

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

care sunt în mod regulat sub tratament pentru a controla condiţiile patologice. În cazul epilepticilor, concentraţiile scăzute sau negative de droguri pot indica faptul că răposatul nu şi-a luat medicamentele în modul prescris şi ca urmare, au suferit un atac de apoplexie fatal.

Metode de analiză criminalistică a opioidelor

Termenul de opiaceu se referă la produsele derivate din opiu de mac. Atenţia criminaliştilor se concentrează pe derivaţi de morfină şi opiacee sintetice sau semisintetice, cu acţiune agonală (agonistic) la receptorii opioizi OP1 (d), OP2 (k) sau OP3 (m). Pentru acţiunea opiaceelor asupra receptorilor opioizi pot fi consultate şi alte lucrări (Kilpatrick & Smith, 2005; Dhawan *et al.*, 1996). Metodele de detectare a opiaceelor în probele non-biologice şi biologice; izolarea de opioide din matrici biologice diferite; analiza constituienţilor opiului de mac în materiale vegetale şi în fluidele organismului; separarea şi detectarea heroinei şi metaboliţilor sau a congenerilor săi în preparate ilicite de droguri sau medicamente, precum şi în fluidele organismului; analiza morfinei şi a altor opiacee naturale şi sintetice în fluidele organismului şi în organe sunt de interes criminalistic. În acest scop, sunt necesare tehnici de separare relevante: cromatografia în strat subţire (TLC), gaz-cromatografia (GC), cromatografia de lichid de înaltă performanţă (HPLC) şi electroforeza capilară (CE), combinate cu diferite metode de detecţie.

Metode preliminare utilizate la depistarea drogurilor în stradă

Dispozitivele de testare folosite curent sunt simple şi robuste şi se bazează de regulă pe reacţii de culoare bine-cunoscute. Sarcina principală a acestor testeeste selecţia probelor sau a materialelor suspecte pentru examinarea lor ulterioară cu metode confirmatorii. Narcopouchs®, de pildă, reprezintă un kit de teste de culoare pentru detectarea opiaceelor, amfetaminei, cocainei, barbituricelor, canabinoizilor şi a dietilamidei acidului lisergic (LSD) în probe colectate pe stradă (ODV Inc, Paris, ME, SUA). Acest test foloseşte reacţii de culoare cu mai mulţi reactivi, cum ar fi reactivii Marquis, Meyer, Mecke, Ehrlich, Fast Blue B şi Koppanyi. Întreaga procedură se realizează în cutii de plastic prin care se poate vedea reacţia de culoare. Kit-ul Herosols® (Mistral Detection Ltd., Jerusalem, Israel) constă dintr-un reactiv pentru pulverizare şi

hârtia specială de testare. Astfel, pielea suspectului este ştearsă/tamponată cu o bucăţică de hârtie, pe care este apoi pulverizat Herosol. O culoare violet indică prezenţa heroinei. Un test similar pentru heroină, numit Detect Now™ este oferit de Test Medical Symptoms@Home, Inc. şi a fost comercializat prin intermediul internetului ca un test simplu pentru părinţii care doresc să verifice dacă copiii lor consumă droguri. NIK® (Public Safety Inc., Armor Holding, Jacksonville, FL, USA) reprezintă un alt kit ce cuprinde fiole pentru principalele clase de droguri printre care opiacee/amfetamine, heroină/opiu. Drug Wipe şi Drug Wipe II (Securetec AG, Germany) sunt concepute ca teste imunochimice pentru detectarea drogurilor pe suprafeţe diferite, de exemplu, în bagaje, paşapoarte, valută, şi, de asemenea, pe piele, pe limbă sau în transpiraţie. Limita de detecţie pentru opiacee este de 25 ng în echivalent morfină. Cu un cititor portabil se poate efectua determinarea cantitativă colorimetrică.

Metode folosite pentru fluidele biologice

Metodele preliminare folosite pentru fluide biologice pot fi împărţite în teste *on site* şi teste de laborator. Totodată, testele preliminare pot fi folosite atât în scopuri judiciare sau preventive (de exemplu, în scanarea angajaţilor) cât şi ca o metodă de diagnostic în intoxicaţii acute suspecte. În testele *on site* (la faţa locului) aplicate într-o secţie de urgenţă, confirmarea analizelor nu este întotdeauna de maximă importanţă. Rezultatul pozitiv al unui test preliminar de opiacee într-un caz de supradoză cu heroină reprezintă un indiciu pentru administrarea unui antagonist al opiaceelor, de exemplu, naloxonă, în loc să se aştepte rezultatele analizei confirmatorii.

Testele pe teren sunt utilizate pe scară largă pentru grupuri sociale foarte diferite, incluzând şoferii de automobile, criminalii din puşcării, militarii, sportivii, angajaţii din industria petrolieră etc. Cel mai important aspect este posibilitatea de a folosi de eşantionare non-invazive. Din acest motiv, testele pe salivă sau transpiraţie au devenit deosebit de atractive în locul celor pe urină sau sânge. Rata de rezultate fals-pozitive a fost sub 0,25% pentru toate dispozitivele de testare utilizate. Gronholm şi Lillsunde au evaluat opt dispozitivele de teren pentru depistarea de opiacee şi alte droguri în urină şi prin analiza fluidelor orale.

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Testele de laborator sunt utilizate în situaţiile în care numărul de probe examinate este destul de ridicat, de exemplu, în screening-ul de droguri în cazul angajaţilor sau a personalului militar. Acestea folosesc principiul testelor imunologice şi se referă nu numai la opiacee, dar şi la alţi compuşi, cum ar fi amfetaminele, cocaina, benzodiazepinele, barbituricele, canabinoizii şi metadona. Toate kit-urile detectează o gamă largă de opiacee, inclusiv cu morfina şi glucuronoconjugaţii săi, codeina, opiaceele semisintetice, cum ar fi dihidrocodeina (DHC) sau hidrocodona.

Unele teste preliminare au fost adaptate pentru probele postmortem. Astfel, a fost aplicat testul ELISA pentru screening în cazul abuzului de droguri utilizând pentru analiză omogenatele tisulare şi sângele colectate postmortem. Testul pentru morfină este foarte specific pentru morfina liberă, dar mai puţin sensibil decât screening-ul celorlalte opiacee. Acesta din urmă a fost recomandat pentru screening-ul specimenelor postmortem. Când a fost evaluat testul ELISA comercial pentru screening-ul opiaceelor şi a benzodiazepinei în probele postmortem de sânge, în comparaţie cu tehnica GC-MS, s-a găsit o sensibilitate de 95% şi o specificitate de 92% faţă de GC-MS (Kemp et al., 1986). Limita de detecţie a fost 20 μg/l echivalent morfină.

În afară de diluarea urinei prin consum excesiv de alcool sau substituirea probelor, mai mulţi producători oferă diferite kit-uri (seturi) şi reactivi, care pot fi adăugate în urină, pentru a evita detectarea drogurilor. Ca o contramăsură la falsificare, pot fi aplicate următoarele etape: măsurarea temperaturii, greutăţii specifice, pH-ului şi conţinutului de creatinină în urină, precum şi utilizarea de teste chimice specifice pentru depistarea adaosurilor de compuşi chimici. S-a demonstrat faptul că probele care conţin concentraţii mici de morfină şi codeină (2,5 μg/l urină) dau un răspuns negativ atât la examinarea imunochimică şi prin GC-MS, în timp ce parametrii tipici ai urinei rămân neschimbaţi. Firma *Microgenics* a produs un test special numit *Sample Check* care detectează orice interferenţă posibilă cu testul CEDIA® în caz de alterarea eşantionului. Acest test înlocuieşte un grup complex de teste de alterare.

Studii de caz şi prelevarea probelor

Toxicologul are doar o cantitate limitată de materiale pe care să efectueze analizele. Înainte de începerea analizei, toxicologul trebuie să analizeze mai

BCU ASE CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

mulţi factori: cantitatea de probă disponibilă, natura otrăvii căutate şi posibila biotransformare a otrăvii. Pentru că lucrează cu o cantitate limitată de probă, toxicologul va elabora sau aplica o metodă analitică ce va permite detectarea unui număr cât mai mare de compuşi.

Toxicologul trebuie să ţină cont de vârstă, sex, greutate, istoricul medical şi ocupaţia răposatului, precum şi de orice tratamente au fost administrate înainte de moarte, constatările preliminare ale autopsiei, medicamentele care au fost la îndemâna răposatului, precum şi intervalul de timp dintre debutul simptomelor şi moarte. Evident, posibila identificare a otrăvii înainte de analiză ar ajuta foarte mult. Colectarea probelor pentru analizele toxicologice este de obicei efectuată de către patolog la autopsie. Sunt necesare mostre din numeroase fluide ale corpului şi organe, deoarece drogurile şi otrăvurile au afinităţi diferite pentru ţesuturile organismului (a se vedea tabelul următor). Drogurile şi otrăvurile nu sunt distribuite uniform în tot organismul, iar criminalistul analizează mai întâi organele care sunt predispuse a avea cele mai mari concentraţii de droguri. Pentru analiza toxicologică detaliată este necesară o cantitate mare din fiecare mostră, deoarece o procedură prin care se extrage şi se identifică un compus sau clasă de compuşi poate fi ineficientă în extragerea sau identificarea altora.

Interpretarea rezultatelor

Toxicologul interpretează concluziile asupra efectelor fiziologice ale substanţelor toxice găsite, în funcţie de concentraţia determinată şi dacă acestea au putut provoca decesul victimei sau nu. Contează calea de administrare, indiferent dacă toxicul prezent este sau nu în concentraţie suficientă pentru a provoca moartea sau modifica comportamentul victimei astfel încât să contribuie la decesul său. Ca regulă generală, cele mai mari concentraţii de toxic vor fi găsite la locul faptei. Prin urmare, prezenţa unor cantităţi mari de droguri sau otrăvuri în tractul gastro-intestinal şi ficat indică administrarea orală, în timp ce concentraţii mai mari înplămâni, în comparaţie cu alte organe viscerale indică inhalare. Concentraţii mari de toxic în ţesuturile din jurul unui loc de injectare vor indica efectuarea recentă a unei injecţii intramusculare. Injectarea intravenoasă introduce un medicament sau drog direct în circulaţia sistemică, evitând astfel efectul iniţial de concentrare în ficat. O examinare a concentraţiei

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

relative a medicamentelor în mai multe ţesuturi poate indica mai degrabă o injecţie intravenoasă, decât o administrare pe cale orală.

Existenţa unui toxic în tractul gastro-intestinal, indiferent de cantitate, nu constituie o dovadă suficientă pentru a stabili dacă acesta este cauza decesului. Toxicologul trebuie să demonstreze că absorbţia toxicului a avut loc şi că a fost transportat prin intermediul circulaţiei generale către organul în cauză, unde aceasta a avut un efect fatal. Acest lucru este stabilit prin analiza sângelui şi a ţesuturilor. O excepţie de la regulă este dată de substanţele chimice puternic corozive, care îşi exercită efectele nocive direct asupra ţesuturilor, prin distrugerea acestora, provocând astfel hemoragie şi şoc. Exemple relevante ar fi acizii clorhidric şi sulfuric concentraţi, leşia şi fenolul. Rezultatele analizei de urină sunt adesea nesemnificative în determinarea efectelor fiziologice ale unui agent toxic. În general, aceste rezultate stabilesc numai dacă înainte decolectarea probei toxicul a fost prezent în organism. Corelarea valorilor obţinute în analiza urinei cu efectele fiziologice este nesemnificativă, din cauza diverşilor factori care influenţează viteza de excreţie a anumitor compuşi şi a volumului de urină.

Efectele fiziologice ale drogurilor şi ale otrăvurilor se corelează cu concentraţia acestora în sânge şi stabilesc dacă absorbţia a avut loc. Concentraţiile sanguine sunt adesea cei mai buni indicatori de toxicitate; sângele este una dintre cele mai valoroase probe pentru toxicolog. Pentru a interpreta corect concentraţiile din sânge sau din ţesuturi, toxicologul trebuie să ia în considerare toţi factorii care influenţează obţinerea unei concentraţii date a toxicului într-o probă. Interpretarea valorilor analizei sângelui sau ţesutului poate fi împărţită în trei categorii: (1) normal sau terapeutic, (2) toxic şi (3) letal. O valoare normală este a unei substanţe găsite la majoritatea populaţiei şi care nu are nici un efect toxic asupra organismului. De exemplu, cianura este de obicei, uşor de identificat ca produs chimic extrem de otrăvitor, cu toate acestea, cantităţile neînsemnate de cianură sunt generate în urma ingestiei anumitor alimente. De asemenea, cantităţi mici de cianură sunt generate şi absorbite în timpul fumatului.

Multe metale grele şi metaloide, cum ar fi plumbul, mercurul şi arsenul, care nu sunt esenţiale pentru funcţionarea normală a corpului, sunt prezente la majoritatea populaţiei, datorită contaminării din mediu. O valoare terapeutică este acea concentraţie a unui compus care produce efecte terapeutice, cantitatea

de medicament necesară şi suficientă pentru a trata o afecţiune medicală, dar nu suficientă pentru a provoca toxicitate. O valoare toxică este acea concentraţie a unui compus care este asociată cu efectele nocive, care pot pune sau nu viaţa în pericol. O valoare letală este acea concentraţie a unui toxic care are ca efect sau reprezintă chiar cauza decesului şi este stabilită în mod constant drept cauza morţii, în cazuri bine documentate şi investigate.

Toxicologul poate face diferenţa între o intoxicaţie acută şi o intoxicaţie cronică. De pildă, părul este proba preferată pentru diagnosticul de expunere cronică la arsenic. Analiza secvenţială a unor secţiuni de păr poate indica modelul de expunere la arsenic. Arsenicul care circulă prin sânge este depus în foliculul pilos, unde este prins de keratină şi transportat până în foliculul de păr în creştere. Deoarece concentraţiile de arsenic din sânge cresc sau scad, la fel se întâmplă şi cu cantitatea de arsenic depus în firele de păr în procesul de creştere. Părul creşte cu aproximativ 0,4-0,5 mm/zi sau 12,5 mm/lună. Prin urmare, analiza unor segmente de 1,0 cm sau mai mici oferă un model lunar de expunere. Conţinutul normal de arsenic de păr variază în funcţie de factori nutriţionali, de mediu şi fiziologici. Cu toate acestea, limita maximă la persoane care nu sunt expuse la arsenice ste de aproximativ 5 ppm. După ce un individ este îndepărtat de sursa de expunere la arsenic, valorile acestuia în păr revin la normal în câteva săptămâni.

Laboratoarele de medicină legală

Acestea se ocupă cu examinarea dovezilor de la locul faptei, care sunt legate de crimă, de victime şi de suspecţi. Constatările ştiinţifice de laborator sunt coroborate cu alte dovezi pentru pregătirea urmăririi penale şi realizarea procedurilor juridice sau a procesului penal. Angajarea în aceste laboratoare necesită, de obicei, o diplomă în una sau mai multe din aceste domenii de activitate. Multe persoane cu masterat şi doctorat sunt serologi, toxicologi şi specialişti în microscopie. A crescut şi în Romania numărul de universităţi care acordă grade universitare şi postuniversitare în domeniul criminalisticii, inclusiv în toxicologia medico-legală, cum ar fi Academia de Poliţie, UMF-urile etc. Laboratoarele de criminalistică oferă o carieră interesantă şi plină de realizări în domeniul ştiinţei criminalistice unui absolvent de facultate specializat în una sau mai multe ştiinţe naturale.

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Dovezile fizice examinate în laboratoare pot fi utilizate în cadrul anchetelor criminalistice în următoarele domenii semnificative: 1) definirea elementului crimei; 2) furnizarea căilor de investigaţie pentru realizarea unui caz; 3) legarea de scena crimei a suspectului sau a victimei; 4) infirmarea unui alibi sau a unei declaraţii prin studiul probelor care diferenţiază o sinucidere de o crimă; 5) identificarea suspectului, prin compararea amprentelor sau profilarea ADN-ului şi nu numai; 6) inducerea declaraţiei de mărturisire a suspectului; 7) exonerarea unui nevinovat.

Laboratoarele de medicină legală sau de criminalistică variază în dimensiune şi dotare. În SUA, de pildă, funcţionează laboratoarele de medicină legală îndiferite regiuni ale ţării cu specialităţi diferite. Laboratorul FBI, din Washington, DC, este cel mai recunoscut laborator de acest gen. Drug Enforcement Administration (DEA) are laboratoare pentru analiza drogurilor şi a medicamentelor ilicite, iar Biroul ATF (alcool, tutun, arme de foc) ajută anchetele penale care implică incendii şi explozii, precum şi cele legate de arme de foc, alcool şi tutun. Armata SUA dispune de un laborator de criminalistică în Georgia, precum şi altele în Frankfurt, Germania şi în Japonia. Multe agenţii implicate în aplicarea legii se bazează pe laboratoare similare la nivel local sau de stat. Birourile medicilor legişti au, de obicei, anexe cu instalaţii de laborator. În Romania sunt active laboratoarele de la poliţie, grăniceri etc.

Secţiuni tipice ale laboratorului criminalistic

Laboratorul FBI şi cele mai multe laboratoare de stat sunt considerate de full-service, în timp ce multe alte laboratoare se concentrează pe examinul medical sau analizei ţesuturilor şi a fluidelor pentru depistarea de droguri, otrăvuri şi alte substanţe toxice. Laboratoarele private de medicină legală, cum ar fi National Medical Service Inc. din Willow Grove, Pennsylvania, oferă servicii de toxicologie medico-legală şi criminalistică. Unele dintre laboratoarele private de specialitate medico-legală sunt dedicate numai unui domeniu al ştiinţei criminalistice. Institutul de Cercetare McCrone din Chicago, Illinois, efectuează analiza microscopică de pulberi,,iar Cellmark Diagnostics din Germantown, Maryland, USA, oferă o gamă de analize a ADN-ului atât din probele din sânge cât şi din alte părţi ale corpului. Laboratoare de certificare sau acreditare există în cadrul unor organizaţii precum Asociaţia Directorilor de

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Laborator Criminalistic (ACLD). În Romania este necesar să se înfiinţeze astfel de laboratoare cu finanţare publică sau privată, iar rezultatele acestora sa fie acceptate în actul de justiţie. Pentru aceasta se pot accesa fonduri europene, dar acestea trebuie cerute de un grup de cercetători criminalişti, în baza unei experienţe demonstrabile în domeniu.

Colectarea probelor

Calitatea probelor fizice depinde de buna observare, documentare, de colectarea, conservarea, ambalarea acestora la locul crimei, precum şi a celor ce provin de la victimă şi suspect. Acest lucru presupune instruirea corespunzătoare şi experienţă de anchetator la scena crimei şi patologi medico-legali, precum şi oameni de ştiinţă şi criminalişti implicaţi în examinarea ştiinţifică a probelor fizice în laborator.

Este necesar să se cunoască poziţia probelor fizice de la scena crimei înainte de colectare şi de ambalare. Aceasta se realizează de obicei prin fotografiere, note scrise şi diagrame. Colectarea probelor fizice impune o atenţie deosebită asupra tipului de dovezi întâlnite şi ambalarea lor corespunzătoare. Dovezile nu trebuie să se modifice, să se denatureze sau să fie contaminate înainte de analiză. Elementele colectate trebuie marcate cu un număr secvenţial, în funcţie de locul unde au fost descoperite, notând ora şi data şi parafarea acestor informaţii de către persoana care a colectat probele. Materiale cu risc biologic, cum ar fi sângele şi fluidele corpului, ar trebui plasate în containe remarcate în mod clar. Laboratoarele criminalistice au protocoale de colectare a probelor şi ambalare care trebuie respectate cu stricteţe. De pildă, materialele pătate de sânge, hainele sau lenjeria de pat ar trebui să fie bine uscate la aer, înainte de ambalare, pentru a evita activitatea bacteriană. Sunt necesare containere speciale pentru colectarea de particulele sub formă de urmă, din probă, ca să se evite pierderea sau contaminarea.

Tipuri de dovezi fizice

Examinarea şi analizarea probelor fizice de către toxicolog presupune identificarea fizică sau chimică a materialelor cu cel mai înalt grad de certitudine ştiinţifică posibilă cu tehnologia actuală. De pildă, identificarea şi determinarea cantităţii de substanţă prezentă în probe reprezintă obiective ale analizei

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

alcoolului şi a drogurilor ilicite. Se stabilesc astfel elementele infracţiunii în caz de conducere a automobilului în stare de ebrietate sau în cele care implică deţinerea sau vânzarea de substanţe cu regim special.

Uneori se compară probe extrem de diferite între ele pentru a se realiza contextul unei infracţiuni sau crime. O astfel de comparaţie implică potrivirea fizică a fragmentelor de obiecte găsite la faţa locului sau în curtea infractorilor, stabilirea tipului de autoturism implicat, existenţa urmelor de sticlă sau de haine, toate sub forma unui joc puzzle. Unele probe sub formă de urmă, cum ar fi firele de păr şi fibrele, necesită un studiu comparativ microscopic. Un exemplu de suficienţă în actul de justiţie îl constituie „rezolvarea" unui caz numai pe baza mărturiei făptuitorului. Este o greşeală imensă această atitudine, deoarece un individ poate lua asupra sa fapta altei persoane, iar alte persoane pot fi obligate la mărturie mincinoasă. De aceea, refacerea întregului tablou pe bază de dovezi ştiinţifice poate conduce la un act de justiţie corect. Criminalistul poate să prezinte şi probabilitatea că dovada adusă de el este corectă şi incriminează infractorul sau criminalul. Astfel, analiza ADN-ului conduce la o identificare a suspectului cu o probabilitate mai mare de 99,99%.

Fluidele din organism, cum ar fi sângele, sperma, saliva, sub formă lichidă sau uscată sunt adesea prezente pe ţesături, pe haine sau pe alte obiecte. Aceste materiale biologice sunt frecvent colectate pe cârpe sau pe tampoane sterile de la locul crimei sau de la persoanele implicate pentru identificări prin tehnici serologice sau profil ADN. Alte excreţii ale corpului, cum ar fi urina, transpiraţia şi fecalele pot fi identificate în diferite pete sau materiale.

Ţesuturile organismului pot fi prelevate pentru analize toxicologice din organele recoltate la autopsie, împreună cu sânge, urină şi conţinutul stomacal.

Drogurile şi substanţele cu regim special sunt recoltate sau confiscate pentru identificare şi cântărire; acestea pot fi materii prime vegetale, pulberi, tablete, capsule sau alte preparate.

Metode de extracţie a substanţelor toxice

Izolarea substanţelor toxice şi a drogurilor din diferite produse se realizează cu solvenţi organici, după metode generale sau speciale. De exemplu, nicotina, acidul picric etc., pot fi izolate şi prin antrenare cu vapori de apă, operaţie care este de obicei urmată de extragerea distilatului cu solvenţi organici.

B.C.U. „M. EMINESCU" IAŞI

În general, solventul trebuie să extragă toxicul nealterat, precipitând în acelaşi timp proteinele. Pentru a mări eficienţa extractivă a solventului se pot adaugă acizi sau baze. Tehnicile de extracţie pot fi clasificate în funcţie de i) solventul folosit şi ii) *eficienţa extragerii*. În *extracţia generală cu alcooli acidulaţi* se pot separa grupele de toxici bazat pe solubilitatea în apă, alcool sau amestec hidroalcoolic, a sărurilor alcaloizilor cu acid tartric sau oxalic şi a insolubilităţii lor în solvenţi organici. Aceste săruri sunt descompuse cu bicarbonat de sodiu, când alcaloizii trec în forma bazică, insolubili în apă, dar extractibili cu solvenţi organici.

Izolarea opiaceelor din probele biologice

Extracţia cu solvent a fost utilizată pe scară largă pentru izolarea de opioide din probele nebiologice, din plante şi cele umane. Recent, a fost descrisă microextracţia în fază lichidă (LPME) de Rasmussen şi colaboratorii, precum şi de grupul Ugland. Materialul biologic de analizat (50-500 g) în funcţie de natura acestuia, se omogenizează prin pulverizare, solubilizare sau suspendarea acestuia într-o cantitate mică de apă. Conţinutului stomacal este triturat în mojar cu puţină apă caldă. Se adaugă la proba omogenizată un volum dublu de alcool de 95° şi acid tartric în pr0porţie de 1% faţă de cantitatea de probă, astfel încât pH-ul să fie acid (pH = 4-5). Nu se folosesc acizi minerali, deoarece aceştia impurifică produsul de analizat cu albuminaţi solubili şi determină hidroliza cocainei şi a atropinei.

Filtratul este distilat sub presiune redusă sau este evaporat pe baie de apă la o temperatură sub 40°, până la consistenţa siropoasă, apoi se răceşte (Proca & Butnaru, 1995). Proba se tratează, agitând continuu, cu 3-4 ori volumul său cu alcool 95%, după care se lasă să se aglomereze precipitatele floconoase proteice, apoi se filtrează. Filtratul este spălat cu alcool, care se adaugă la filtrat. Filtratul este din nou distilat, apoi tratat cu alcool 95% şi filtrat. Purificarea prin tratare cu alcool este repetată de 3-4 ori. La final, se foloseşte alcool absolut. Purificarea este completă atunci când la adăugare de alcool absolut nu se mai observă formare de flocoane proteice.

Lichidul obţinut se concentrează pe baie de apă până la consistenţă siropoasă apoi se diluează cu apă la 50 ml. Se obţine astfel un lichid apos ce conţine majoritatea substanţelor toxice sub formă de tartraţi sau sub formă

liberă. Toxicii sunt extraşi din lichidul apos acid, în mediul acid sau alcalin, după natura toxicului, cu eter acid sau cloroform. În lipsa indicaţiilor asupra naturii toxicului se procedează la extracţii succesive atât în mediul acid, cât şi în mediul alcalin. Când lichidul apos respectiv este uşor opalescent, din cauza impurităţilor lipidice, acesta nu trebuie filtrat, pentru a nu se antrena şi o parte din toxicii fixaţi prin adsorbţie pe microprecipitat.

Extracţia eterică acidă: se aduce cantitativ lichidul apos acid într-o pâlnie de separare, se verifică dacă pH-ul este acid şi se adaugă 30 ml eter de petrol. Se repetă extragerea de 3 ori. Extractul de eter de petrol poate conţine insecticide organoclorurate, acid salicilic sau glutetimidă. Se evaporă extractele neunite de eter de petrol pe câteva sticle de ceas şi se identifică aceste substanţe. Lichidul apos acid rămas este extras în continuare cu eter etilic, iar operaţia se repetă de 3 ori cu câte 20, 30 şi 50 ml. La agitare pentru separarea straturilor trebuie să se evite formarea emulsiilor. În cazul în care acestea s-au format, se sparg prin centrifugare, filtrare pe sulfat de sodiu anhidru sau adăugare de eter de petrol (sau alcool amilic).

Extractul eteric poate conţine derivaţi barbiturici; glucozizi cardiotonici; lactone şi derivaţi; acizi organici; metilxantine, colchicină şi veratrină, pesticide etc. Extractele reunite de eter etilic sunt evaporate pe sticle de ceas. Evaporarea se poate face sub acţiunea unui uscător de păr (în curent de aer cald), la o sursă de raze infraroşii sau pe o baie de apă. Pe aceste reziduuri se realizează reacţiile preliminare şi reacţiile de identificare a substanţelor toxice respective.

Extracţia eterică alcalină. Lichidul apos acid provenit de la extracţia acidă cu eter etilic este adus la pH 8 cu bicarbonat de sodiu 10% sau cu amoniac 10% şi extras de trei ori cu eter etilic. Extractul eteric alcalin poate conţine alcaloizii bază (cu excepţia morfinei şi a unei părţi din stricnină), alte substanţe organice, naturale sau de sinteză. Eterul alcalin este evaporat pe sticle de ceas. Soluţia apoasă rămasă este alcalinizată cu bicarbonat sodiu şi extrasă din nou cu eter, urmată de evaporare pe sticle de ceas.

Extracţia cloroformică alcalină. Lichidul apos alcalin rezidual poate conţine morfină, teobromină şi teofilină şi o parte din stricnină. Pentru a le separa din lichidul apos alcalin, se face încă o extracţie cu cloroform, după care extractul se evaporă pe sticle de ceas şi se concentrează.

Extracţia prin echilibrare se bazează pe agitarea materialului biologic de analizat cu o cantitate anumită de solvent, când se realizează un echilibru de repartiţie a toxicului între produsul de analizat şi solvent. Din lichidul de extracţie, ajuns la echilibru, se determină toxicul.

Extracţia exhaustivă presupune epuizarea produsului de analizat cu solvent mereu proaspăt, operaţia repetându-se până la extragerea completă. Se pot folosi următoarele procedee: extracţie cu solvent care recirculă (în aparat Soxhlet) sau extracţie cu solvent care se reînnoieşte (în pâlnia de separare).

Produsul acidulat poate fi supus electrolizei (*metoda electrodializei propusă de Dhérè-Fabre*). În acest fel sunt separaţi şi ionii minerali, alături de cei organici. Metoda este aplicabilă la extragerea barbituricelor şi alcaloizilor, însă uneori poate produce degradarea toxicului.

Precipitarea substanţei organice se poate realiza şi prin tratare cu tungstat (wolframat) de sodiu şi apoi încălzire (*metoda cu wolframat de sodiu* propusă de *Valov*), urmată de filtrare şi extragere cu solvenţi organici. Metoda este aplicabilă la substanţele cu caracter acid sau neutru.

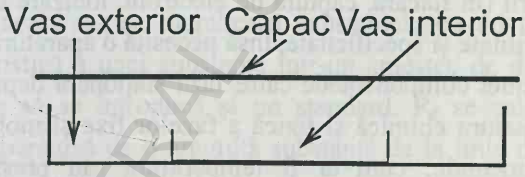
În *metoda cu sulfat de amoniu (Nicolls)*, produsul de analizat este acidulat cu HCl, apoi saturat cu sulfat de amoniu şi încălzit la 90 °C. Filtratul răcit este extras până la epuizare cu solvenţi organici. Metoda se pretează la orice material: organe, sânge, urină, alimente, băuturi.

Se mai poate folosi şi *metoda digestiei acide*, în care materialul de analizat acidulat cu HCl este încălzit pe baie de apă timp de o oră, când precipită proteinele. Filtratul este extras cu solvenţi organici. Metoda este eficientă pentru fenotiazine, chinină, morfină etc., ce pot fi uşor separate din complexul toxic-proteină.Lichidele biologice acidulate sau alcalinizate pot fi tratate cu sulfat de sodiu anhidru până obţinerea unei mase pulverulente, care se epuizează cu solvenţi organici (*metoda Griffon-Le Breton cu sulfat de sodiu anhidru*).

Testul de culoare este o metodă chimică în care substanţa de testat reacţionează cu un reactiv care produce o schimbare a acestuia, producând astfel o culoare observabilă sau schimbarea culorii. Testele de culoare pot fi folosite pentru determinarea unor compuşi sau a unei clase de compuşi. Metodele sunt, de obicei, rapide şi uşor de realizat. Cel mai folositor dintre testele de culoare în toxicologie este depistarea rapidă a probelor de urină, deoarece urina poate fi analizată în mod direct, fără proceduri de extracţie consumatoare de timp. Un

exemplu de test de culoare este „testul lui Trinder" pentru detectarea salicilaţilor în sânge sau în urină. Un reactiv de azotat de fier şi clorură de mercur se amestecă cu 1 ml de sânge sau urină; în cazul în care sunt prezenţi salicilaţii se observă apariţia unei coloraţii violet.

Testul de microdifuziune este utilizat pentru izolarea rapidă şi detectarea de otrăvuri volatile. Un aparat simplu de microdifuziune constă dintr-un vas de porţelan sau sticlă cu capac cu care se acoperă. În interior, la mijlocul acestui vas se află un altul mai mic. În acest vas se introduce proba de cercetat şi reactivii care ajută la îndepărtarea toxicului căutat. Acest toxic este captat, după evaporare într-un lichid care se află în exteriorul vasului mic. De exemplu, lao cantitate mică, 1-5 ml, de sânge, urină, ţesut sau omogenatul se adaugă acid sulfuric diluat. Dacă proba de cercetat conţine cianură, aceasta reacţionează cu acidul sulfuric cu formare de acid cianhidric, volatil. Acesta se evaporă şi este prins într-o soluţie de hidroxid de sodiu sau de potasiu. In această soluţie se realizează teste de culoare sau se fac determinări cantitative, cu reactivi potriviţi, cum ar fi ninhidrina, acidul picric, etc. (Drochioiu et al., 2002; 2004;).



Vasul pentru microdifuziune.

Numeroase otrăvuri volatile şi gaze pot fi detectate prin tehnici de microdifuzie; acestea includ acetaldehidă, monoxid de carbon, cianură, etanol, fluor, hidrocarburi halogenate şi metanol.

Teste fiziologice. Identificarea unor substanţe se realizează cu ajutorul testelor fiziologice. Reziduul de la evaporarea solventului este administrat la animale sau organe izolate, urmărindu-se efectele fiziologice caracteristice (midriază, convulsii etc.)

Cromatografia este otehnicade separare. Componente amestecului de analizat sunt distribuite între două faze, dintre care una este staţionară în timp ce cealaltă, faza mobilă, percolează printr-o matrice sau pe suprafaţa fazei fixe.

Componentele unui amestec prezintă diferite grade de afinitate pentru fiecare fază, iar când acestea sunt transportate de faza mobilă, are loc o migrare diferenţiată. Unele componente sunt reţinute pe faza staţionară mai mult decât altele, producându-se o separare a compuşilor din acel amestec.

Dintre diferite forme de cromatografie, pe hârtie, pe coloană, în strat subţire, în fază gazoasă, cromatografie pe stat subţire este deosebit de utilă prin rapiditatea, sensibilitatea, capacitatea de separare a componentelor dintr-un amestec. Se folosesc diferite suporturi. În funcţie de grupa de substanţe de analizat se utilizează diferite amastecuri de solvenţi pentru migrare, care asigură obţinerea unor R_f cât mai diferenţiate. Pentru o mai bună separare a compuşilor apropiaţi structural, se recomandă uneori CSS bidimensională. Relevarea (identificarea componentelor izolate) se realizează prin examinarea plăcii în lumină UV şi/sau prin pulverizarea cu diferiţi reactivi, indicaţi pentru fiecare substanţă sau grupe de substanţe.

Gaz-cromatografia este o metodă aplicabilă în special pentru separarea amestecurilor şi depistarea ulterioară prin detectarea conductibilităţii termice, detectarea ionizării (în flacără, captură de electroni, ionizare de argon). Metoda are o mare sensibilitate şi specificitate, însă necesită o aparatură complexă.

Reţinerea unei componentede către faza staţionară depinde de mai mulţi factori, inclusiv natura chimică şi fizică a fazelor fixe şi mobile, precum şi de condiţiile experimentale, cum ar fi temperatura sau presiunea. De aceea, substanţele folosite drept standarde de referinţă se cromatografiază în aceleaşi condiţii ca substanţele necunoscute. Aceşti compuşi sunt identificaţi provizoriu prin compararea factorului lor de retenţie în fază staţionară cu acela al standardelor de referinţă. În continuare, după cromatografie, compuşii respectivi sunt identificaţi şi prin alte metodedeanaliză, cum ar fi spectrometria de masă. Din multele tipuri de analize cromatografice, trei sunt mai frecvent aplicate de toxicologi. Acestea sunt cromatografia în strat subţire (TLC), cromatografie de gaz-lichid (GLC) şi cromatografia lichidă de înaltă performanţă (HPLC).

Cromatografie în strat subţire (TLC). În TLC, faza staţionară este un „strat subţire "a unui gel absorbant, de obicei silice (bioxid de siliciu), care se întinde pe un support solid, cum ar fi o placă de sticlă. Extractele concentrate din probele prelevate, împreună cu mostrele (standardele) de droguri sunt aplicate sub formă de serie de puncte de-a lungul părţii de jos a plăcii cromatografice şi

lăsate să se usuce. Placa este apoi plasată într-un vas cromatografic închis (de formă paralelipipedică), în care stratul absorbant de silicagel sau oxid de aluminiu de pe sticlă intră în contact cu faza mobilă (soluţia de developare) sub punctele de substanţe aplicate.

Pentru identificarea unei substanţe se foloseşte un standard, adică substanţa căutată, de exemplu un drog (heroină, LSD, cocaină) sau un medicament, care se spotează pe linia de start. Proba de analizat (de pildă urina, extract din firul de păr etc.) se spotează în celelalte poziţii pe linia de start (vezi metodele descrise în Cap. IX). După migrarea solventului, care poate fi o soluţie ce conţine amestecuri de solvenţi (apă : alcool butilic : acid acetic; apă : acetonă : amoniac etc.) pe placă până în apropierea marginii de sus a plăcii de silicagel depus pe aluminiu, se trasează cu creionul, ca şi în cazul liniei de start, locul unde a ajuns solventul (frontul solventului, Fs). Se usucă placa la aer sau prin suflare cu aer cald de la un uscător de păr, se developează substanţele de pe placă cu un reactiv potrivit, se usucă din nou pentru a obţine pete stabile şi se măsoară factorul de retenţie, R_f. Se pot vizualiza substanţele de pe placă prin iluminarea acesteia cu lumină ultravioletă, dacă placa are adăugată o substanţă fluorescentă. În acest caz se marchează substanţele cu un creion. R_f este de regulă o caracteristică a unei substanţe într-un amestec de developare anumit. Totuşi, este bine să se introducă şi un standard. R_f se calculează astfel: se împarte distanţa parcursă de o anumită substanţă de la linia de start la distanţa parcursă de frontul solventului de la linia de start.

De exemplu, în extractele de urină pentru depistarea drogurilor, toxicologul pulverizează cromatograma cu ninhidrină care produce o culoare roşie sau roz cu aminele primare, cum ar fi amfetamina sau efedrina. Mai târziu, se poate aplica etanol în acid ulfuric, care produce o serie de pete viu colorate în roz, portocaliu, albastru sau verzi dacă sunt prezente tranchilizante fenotiazinice şi metaboliţi ai acestora. Placa poate fi în continuare pulverizată cu iodoplatinat, care reacţionează cu toate bazele azotate.

Există numeroşi reactivi pentru TLC, dar toxicologul trebuie să fie ghidat de natura chimică a compuşilor pe care doreşte să-i identifice. În cazul în care un compus din extract migrează la aceeaşi distanţă şi reacţionează la spray-urile aplicate în acelaşi mod ca drogul de referinţă, toxicologul va încerca identificarea compusului printr-un alt test chimic.

Valori determinate pentru factorul de retenţie, R_f: Acid acetilsalicilic, 0,01; Nicotinamină, 0,04; Paracetamol, 0,05; Fenobarbital, 0,05; Morfină, 0,07; Barbital 0,11; Acetilprocaină, 0,18; Chinină, 0,20; Fenacetină, 0,22; Fenazonă, 0,31; Codeină, 0,33; Procaină, 0,35; Cafeină, 0,38; 6MAM, 0,39; Stricnină, 0,44; Papaverină, 0,55; Heroină, 0,58; Acetilcodeină, 0,61; Aminofenazonă, 0,64; Noscapină, 0,70; Lidocaină, 0,71; Metacualonă, 0,73; Cocaină, 0,80, într-un sistem toluen:dietilamină (85:15).

Cromatografia de gaz-lichid. În GLC, faza mobilă este un gaz purtător inert (de exemplu, heliu, azot), care curge printr-o coloană umplută cu un suport solid acoperit cu fază lichidă staţionară sau peste un strat lichid aflat pe pereţii coloanelor capilare înguste. Mai multe tipuri de materiale lichide sunt folosite în această tehnică în funcţie de natura compuşilor sau grupelor de compuşi care trebuie separaţi şi identificaţi. Probele extrase sunt vaporizate şi transporatate de gaz prin coloană. Deoarece compuşii sunt eluaţi de pe coloană, aceştia sunt transportaţi de gaz la un detector, care produce un semnal electric amplificat şi afişat pe un înregistrator. Migrarea unui compus prin coloană este exprimat prin timpul de retenţie (Rt), care este definit ca intervalul de timp scurs între injectarea probei şi detectarea compusului. Timpul de retenţie oferă o încercare de identificare a compusului, iar intensitatea semnalui la înregistrator poate fi folosită pentru determinarea cantitativă a compusului prezent în probă. Un compus de referinţă se cromatografiază în aceleaşi condiţii ca şi compuşii căutaţi, care produce un semnal (vârf, *peak*) la acelaşi timp. Înălţimea semnalului şi aria sa sunt direct proporţionale cu concentraţia drogurilor prezente. Cromatografia de gaz este deosebit de adecvată pentru analiza substanţelor volatile, cum ar fi alcoolii.

Cromatografia de lichid de înaltă performanţă. În HPLC, faza mobilă este un lichid care curge printr-o coloană umplută cu faza staţionară solidă, sub presiune continuă. Sunt folosite numeroase tipuri de materiale staţionare, iar toxicologul poate folosi aproape orice fel de amestecuri de solvenţi sau numeroase amestecuri apoase ca faza lichidă. Metoda este utilă în special pentru compuşii sensibili la căldură, care se pot descompune atunci când se volatilizează în GLC. Ca şi în cazul GLC, medicamentele eluate sunt identificate pe baza vallorii Rt-ului lor, iar semnalele la detector sunt proporţionale cu concentraţia de droguri prezente în eşantion.

Determinarea concentraţiei otrăvurilor sau a drogurilor

Determinarea unei substanţe (medicament, drog, otravă etc.) se face prin mai multe metode, cum ar fi spectrofotometria de ultraviolet sau vizibil, cromatografie, metode, electrochimice, spectrometria de absorbţie atomică în special pentru determinarea metalelor grele, titrări volumetrice, gravimetrie, etc. În cercetarea criminalistică predomină metodele spectrofotometrice şi cele cromatografice, însă toxicologul poate folosi orice altă metodă care este validată ştiinţific şi dacă poate face dovada că rezultatele acesteia sunt statistic validate.

Spectrometria de masă: un compus este bombardat cu un fascicul de electroni care produce fragmentarea moleculei cu formare de fragmente ionizate pozitiv şi cu mase moleculare diferite. Dintr-o moleculă dată se obţin numai anumite fragmente şi masele acestora formează un spectru caracteristic acelei substanţe. Acest lucru este posibil deoarece molecula încărcată electric nu are toate legăturile identice şi cele mai slabe se vor rupe mai uşor. Fragmentele încarcate electric sunt separate şi detectate în funcţie de masele lor atomice. Spectrul de masă indică proporţia fiecărui fragment (abundenţa relativă) la un raport masă/sarcină specific. În condiţii experimentale, fragmentarea moleculelor complexe conduce la un spectru caracteristic datorită faptului că fragmentarea este extrem de specifică şi permite adesea o identificare fără echivoc. Un model tipic de fragmentare este acela al triazolamului, un medicament hipnotic folosit pentru tratarea insomniei.

Cromatografia de gaz (GC-FID) a putut fi de folos la determinarea of constituienţilor şi metaboliţilor heroinei. Neumann a derivatizat probele de heroină aduse de pe stradă cu N-metil-N-trimetilsililtrifluoroacetamidă (MSTFA). Astfel s-au separate foarte bine compuşii din aceste probe.

Probele care conţin numai 6-AM, fără urme de heroină, nu pot fi clasificate heroină. Din cele 649 impurităţi detectate prin GC-MS, au fost selectate 18 ce pot fi aplicate la stabilirea provenienţei probelor de heroină. Profilul european al impurităţilor din heroină a fost studiat de Stromberg şi colaboratorii, care au stabilit că se poate realiza şi un profil prin cromatografia de gaz.

GC-MS şi HP-TLC s-au utilizat la determinarea heroinei, morfinei, 6-AM şi acetilcodeinei. Pentru a identifica provenienţele trebuie probe din mai multe

regiuni ale globului ca referinţă. Analiza unor solvenţi folosiţi la fabricarea drogurilor poate de asemenea lămuri provenienţa acestora.

Cromatografia de lichid. HPLC a fost folosită pentru studiul heroinei pure şi falsificate. S-au utilizat coloane cu octadecilsilice (ODS) şi detecţie DAD cu mai multe lungimi de undă. Adăugarea dodecilsulfatului de sodiu la faza mobilă a permis o mai bună separare a heroinei din stradă. Johnston şi King au aplicat HPLC pentru a stabili ţara de origine a heroinei. S-au analizat următorii componenţi: heroină, 6-AM, acetilcodeină, noscapină, papaverină, cafeină, metacvualonă, paracetamol şi fenobarbital. Separarea cromatografică a fost realizată pe coloană monolit de silicagel cu gradient de acetonitril. Limita de detecţie a variat între 0.25 şi 1 ng pe coloană. S-a determinat compoziţia în aminoacizi a opiului indian stabilind astfel provenienţa acestuia. Aminoacizii liberi şi totali au fost determinaţi prin HPLC cu derivatizare post-coloană cu o-ftalaldehidă

Spectrometria de masă este utilizată pentru determinarea masei moleculare, compoziţia substanţei şi are la bază analiza moleculei prin ionizare şi observarea comportamentului în câmpul electric sau magnetic.

GS/MS (Gas Chromatography/Mass Spectometry), tehnică hibridă utilizată la compuşii organici volatili. Compuşii sunt separaţi pe coloana cromatografică, apoi sunt introduşi prin intermediul unei interfeţe speciale în camera de ionizare a spectrometrului de masă. Compuşii sunt ionizaţi (fie prin impact electronic sau prin ionizare chimică) apoi aceleraţi printr-un câmp electromagnetic controlat. Timpul de trecere precum şi voltajul aplicat exact la momentul de impact sunt unice pentru compuşii de aceeaşi masă. În acest fel, timpul de retenţie şi masa sunt măsurate pentru fiecare compus în parte.

Electroforeza capilară poate fi folosită la analiza drogurilor de tipul heroinei. Probele au provenit din diferite regiuni ale globului. Materialul adsorbant a fost format din ciclodextrină, dimetilciclodextrină putând fi aplicat la un număr mare de droguri acide sau neutre (heroină).

Folosirea unei combinaţii de metode. S-au identificat componenţii opiului brut, a morfinei purificate şi a heroinei ilicite folosind TLC, HPLC şi GC. Izolarea morfinei din opiu se face cu var sau cu amoniac care pot fi determinaţi în morfina brută. În timpul acetilării se formează, de asemenea, impurităţi ce pot fi determinate şi care atestă sursa acestui drog.

Prin calorimetrie diferenţială de scanning s-au degradat probele de heroină cu formare de 6-AM care a fost apoi măsurat prin HPLC-UV. Aproximativ 41% din diacetilmorpfină şi 100% cafeină au fost recuperate după volatilizare.

S-au determinat 6-AM, metabolit al heroinei, în urină, prin GC-MS. Uzual 6-AM este extras cu solvenţi şi apoi se determină cu GC-MS. HPLC cu fază inversă şi cu detecţie electrochimică sau UV s-a folosit de asemenea la determinare 6-AM. Cromatografia de lichid poate detecta 17 alcaloizi din opiu prin măsurarea absorbanţei la 280 nm. Detecţia limită a fost de 0,1 mg/l. Electroforeza capilară se poate folosi pentru separarea heroinei, 6-AM, morfinei, codeinei etc. Urina se filtrează, se acidulează la pH 2-3 şi se centrifughează. Limita de detecţia este de 0,2 – 0,5 mg/l pentru morfină cu detecţie UV.

Exemple de analize

Metadona poate fi detectată prin imunoteste pe urină. S-au găsit astfel anticorpi specifici faţă de metadonă. Un procedeu ELISA poate fi folosit curent în determinarea acestei substanţe în urină sau în salivă. Determinările sunt concordante cu cele prin GC-MS.

Ceto-opioidele de semisinteză sunt utilizate curent ca analgezice şi antitusive, însă pot fi folosite ca droguri, putând da dependenţă (hidrocodona, hidromorfona, oxicodona sau oximorfona). Aestea se determină prin metodele uzuale, cromatografice sau GC-MS. Imunotestele sunt importante pentru depistarea drogurilor opioide. Metoda cromatografică în strat subţire poate fi utilă pentru materialele vegetale, urină şi alte fluide ale corpului. Extracţia se face cu solvenţi potriviţi, urmată de analiza drogurilor prin numeroase metode analitice.

Finanţarea acestor cercetări

UE & Guvernul României prin European Social Fund POS DRU 2007-2013, Contract POSDRU/86/1.2/S/62307.

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Bibliografie

Baselt, R.C., Cravey, R.H., *Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man*, Yearbook Medical Publishers, 3rd edition, Chicago, IL, 1990.

Cravey, R.H., Baselt, R.C., *Introduction to Forensic Toxicology*, Biomedical Publications, Davis, CA, 1981.

Curry, A.S., *Poison Detection In Human Organs*, 4th edition, Charles Thomas Publisher, Springfield, IL, 1988.

Dhawan, B.N., Cesselin, F., Raghubir, R., Reisine, T., Bradley, P.B., Portoghese, P.S., Hamon, M., *International Union of Pharmacology XII Classification of Opioid Receptors*, în *Pharmacol Rev*, 48, 1996, p. 567-592.

Eckert, W.G., James, S.H., *The Role of the Forensic Laboratory*,în *Introduction to Forensic Sciences*, 2nd edition, CRC Press, Boca Raton / New York / London / Tokyo, 1997, p. 43-65.

Ellenhorn, M.J., Barcelous, D.G., *Medical Toxicology, Diagnosis and Treatment of Human Poisoning*, Elsevier Science Publishing, New York, 1988.

Elliot, S., *Forensic Toxicology Handbook*, (ROAR) Forensics Ltd., UK, 2009.

Kemp, J.A., Marshall, G.R., Wong, E.H.F., Woodruff, G.N., *The Affinities, Potencies and Efficacies of some Benzodiazepine-receptor Agonists, Antagonists and Inverse-agonists at Rat Hippocampal GABAA-receptors*, în *Br. J. Pharmac.*, 91, 1987, p. 601-608.

Kilpatrick, G.J., Smith, T.W., *Morphine-6-glucuronide: Actions and Mechanisms*, în *Med Res Rev*, 25, 2005, p. 521-544.

Moffat, A.C. (ed.), *Clarke's Isolation and Identification of Drugs in Pharmaceuticals, Body Fluids and Post-mortem Material*, 2nd edition, Pharmaceutical Press, London / England, 1986.

Poklis, A., *Forensic Toxicology*, în *Introduction to Forensic Sciences*, 2nd edition, CRC Press, Boca Raton / New York / London / Tokyo, 1997, p. 116-141.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

9. Elemente de toxicologie analitică

Extracţia şi cromatografia în strat subţire

Pregătirea probelor pentru analizele medico-legale GC-MS (şi nu numai) presupune cunoaşterea noţiunilor fundamentale privitoare la extracţie şi cromatografie, ca metode de bază pentru izolarea şi purificarea compuşilor.

Extracţia este una dintre operaţiile de bază ale practicii chimiei organice fiind una dintre principalele metode de separare şi purificare a substanţelor organice. Extracţia este operaţia prin care unul sau mai mulţi componenţi ai unei faze (lichide sau solide) sunt transferaţi într-o altă fază (lichidă), nemiscibilă sau parţial miscibilă, adusă în contact cu prima.

În funcţie de starea de agregare a produsului din care se face extracţia, se deosebeşte:

1. extracţia solid-lichid (elutriere);
2. extracţia lichid-lichid;
3. extracţia gaz-lichid.

Extracţia solid-lichid urmăreşte separarea unei substanţe organice într-un anumit solvent în care componentul este solubil. Un solvent bun pentru extracţie trebuie să îndeplinească următoarele condiţii:

- să solubilizeze cu uşurinţă substanţa de extras;
- să fie selectiv;
- să nu reacţioneze cu substanţa de separat;
- să asigure o îndepărtare facilă după extracţie;
- să fie ieftin şi disponibil comercial.

Se cunosc diverse procedee de extracţie a solidelor cu solvenţi. Extracţia din substanţe solide cu ajutorul solvenţilor se realizează cu ajutorul mai multor tipuri de operaţii:

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Macerarea şi digerarea

Macerarea este cel mai simplu procedeu de extracţie ce constă în amestecarea fazei solide cu solventul urmată de filtrarea soluţiei obţinute. Acest procedeu necesită o dispersare cât mai accentuată a substanţei solide prin adăugare repetată de solvent şi agitare continuă.

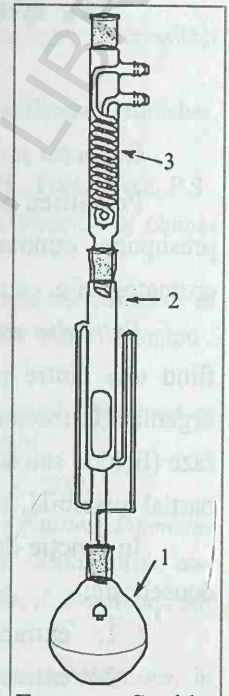
Digerarea este de fapt macerarea la cald.

Ambele operaţii pot fi realizate cu uşurinţă deoarece nu necesită aparatură complicată, având nevoie doar de un pahar Berzelius în care se face extracţia şi pâlnie Büchner şi flacon Erlenmeyer de vid pentru realizarea filtrării.

Cele două procedee sunt des folosite în extracţia substanţelor organice din plante sau din organele animale.

Procedeul Soxhlet

Pe scară largă se aplică extracţia continuă în aparatură specială (extractoare Soxhlet) în care, de obicei, solventul proaspăt este furnizat prin fierberea extractului.



Extractor Soxhlet

Extractorul Soxhlet se compune dintr-un balon (**1**), un corp de extracţie (**2**) şi un refrigerent ascendent (**3**), legate între ele.

Materialul solid, mărunţit în prealabil pentru ca solventul să vină în contact cu o suprafaţă cât mai mare, se introduce în spaţiul de extracţie, fie introdus într-un cartuş special de hârtie de filtru, fie vărsat direct în spaţiul de extracţie prevăzut cu un fund de sticlă poroasă. Faza extractoare (solventul) din balonul de fierbere distilă printr-un tub lateral, prevăzut eventual cu o izolaţie termică, iar vaporii condensaţi în refrigerentul de reflux picură peste materialul din cartuş. Când spaţiul de extracţie se umple până la înălţimea stratului de preaplin, soluţia cu extract trece prin sifonare în balonul de fierbere şi procesul se repetă.

Uneori sunt suficiente câteva ore pentru extracţia completă, însă la substanţele care trec mai greu în soluţie sunt necesare chiar câteva zile.

La unele aparate Soxhlet, de construcţie imperfectă, se întâmplă ca, după umplerea tubului de preaplin, soluţia cu extract să nu se scurgă dintr-o dată, ci

BCU CLUJ / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

numai în picături, în ritmul în care picură dizolvantul din refrigerentul de reflux. Acelaşi defect apare şi atunci când cartuşul de extracţie este greu permeabil sau dacă este lipit de gura sifonului. Acest defect înrăutăţeşte extracţia. El se poate înlătura suflând în refrigerent.

Principalii factori care influenţează o extracţie solid-lichid sunt:

- solubilitatea solidului în solvent;
- viteza de transfer a solidului în fază lichidă.

Solubilitatea solidului în solvent poate fi influenţată din exterior prin alegerea unor solvenţi adecvaţi.

Viteza de transfer a solidului în faza lichidă depinde de mai multe fenomene şi mărimi fizice, ca de exemplu mărimea granulelor solidului, sistemul cristalin, viteza de pătrundere a solventului în solid, difuzia substanţei solide în lichid etc.

Extracţiile uzuale de laborator vizează influenţarea, în sens favorabil, a trecerii solidului în solvent, de exemplu prin mărirea suprafeţei solide, prin extracţie continuă cu solvent proaspăt, prin agitare viguroasă. Ridicarea temperaturii măreşte atât solubilitatea compusului (fenomen termodinamic), cât şi viteza sa de transfer în faza lichidă (fenomen cinetic).

Extracţia alcaloizilor din frunze, a substanţelor aromate din seminţe, a esenţelor de parfum din flori, a zahărului din trestia de zahăr se constituie drept exemple de extracţii solid-lichid, utilizate în industria chimică organică pentru separarea şi izolarea substanţelor din amestecuri naturale.

Solvenţii utilizaţi în mod frecvent sunt: CH_2Cl_2, $CHCl_3$, , CH_3COCH_3, hexan, esteri inferiori (acetat de etil si butil), alcooli, apa.

Extracţia lichid-lichid este operaţia cea mai des aplicată, în laborator şi industrie, în scopul separării şi concentrării unor componenţi din faza iniţială, unde aceştia se află alături de impurităţi. Această operaţie are la bază diferenţa de solubilitate a componentului extras în unul sau mai mulţi solvenţi nemiscibili sau parţial miscibili între ei.

Faza care conţine iniţial componenţii interesaţi se numeşte *fază de extras*, iar faza cu care aceasta se aduce în contact poartă numele de *fază extractoare* sau *solvent*. La terminarea extracţiei, faza care a preluat componenţii se numeşte *extract*, iar faza rămasă *rafinat*.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

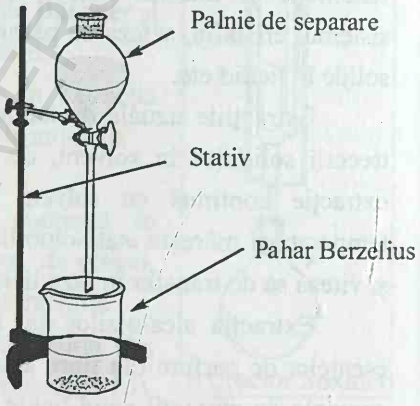
Alegerea unui solvent bun pentru extracţie nu se face întâmplător, impunându-se următoarele condiţii:

- să solubilizeze foarte bine substanţa de extras;
- să fie, pe cât posibil, nemiscibil cu solventul din care substanţa trebuie extrasă;
- să extragă cât mai puţine impurităţi;
- să fie uşor de eliminat după terminarea extracţiei;
- să nu reacţioneze cu substanţa ce trebuie extrasă;
- să fie accesibil şi la un preţ de cost cât mai redus.

Extracţia lichid-lichid în laborator

Pentru o extracţie cât mai eficientă se recomandă efectuarea mai multor extracţii succesive cu porţiuni mici din cantitatea totală de solvent de extracţie.

În laboratoare, extracţiile se efectuează prin agitarea soluţiei cu solventul de extracţie în pâlnii de separare, care datorită formei specifice oferă o suprafaţă de separaţie mare.



Este recomandat ca umplerea cu lichid a pâlniei de separare să nu se facă mai mult de ¾ din volumul său. Pentru o extracţie eficientă este necesară asigurarea unui contact optim între cele două faze, este necesară agitarea intensă a pâlniei timp de 3-5 minute, după care aceasta se lasă în repaus până la separarea completă a celor două faze. În cazul apariţiei de emulsii nu mai este recomandată agitarea, ci în acest caz este suficientă efectuarea unor mişcări circulare în plan orizontal.

Din timp în timp este necesară efectuarea aerisirii, prin inversarea poziţiei pâlniei şi deschiderea temporară a robinetului. Această operaţie este absolut necesară mai ales în cazul solvenţilor extrem de volatili (eter etilic, eter de petrol etc.).

După separarea completă a celor două faze, se scoate dopul de la partea superioară a pâlniei şi faza inferioară este separată cu grijă într-un

BCU "IOAN SLAVICI" UNIVERSITY LIBRARY

flacon Erlenmeyer sau Berzelius. Chiar dacă numai una dintre faze prezintă interes, după terminarea separării vor fi păstrate ambele faze până când avem dovezi certe că substanţa vizată se găseşte acolo unde trebuie.

Faza apoasă poate fi uşor deosebită de faza organică nemiscibilă pe baza densităţilor celor două faze (faza cu densitatea cea mai mare va constitui faza inferioară) sau şi mai simplu, prin efectuarea unui simplu test de laborator, prin adăugarea câtorva mililitri de apă într-o eprubetă şi colectarea câtorva picături din faza inferioară, astfel faza apoasă va forma o soluţie omogenă, iar faza organică un sistem bifazic.

Atunci când limita de separaţie dintre cele două faze se apropie de robinet, se reduce mult viteza de separaţie.

La final, pentru a se evita o eventuală impurificare, faza superioară se toarnă prin gura pâlniei într-un alt flacon, faza organică se usucă utilizând un agent de deshidratare convenabil (Na_2SO_4 anh., $CaCl_2$ anh., $MgSO_4$ anh. etc.), iar ulterior se îndepărtează solventul prin distilare.

Cromatografia în strat subţire

Cromatografia este o metodă de separare şi de purificare a substanţelor organice, introdusă relativ recent în practica de laborator. Denumirea de cromatografie a fost dată de botanistul rus Ţvet şi în limba rusă înseamnă „culoare". Ţvet a aplicat această metodă la separarea coloranţilor vegetali (clorofile, carotinoide) printr-o coloană cu carbonat de calciu.

Cromatografia se bazează pe repartiţia diferită a moleculelor între o fază staţionară şi o fază mobilă. În funcţie de afinitatea faţă de faza staţionară şi cea mobilă, diferitele specii moleculare ale unui amestec sunt antrenate cu viteze diferite, prin deplasarea fazei mobile, realizându-se astfel separarea lor.

Ca principiu şi ca tehnică, cromatografia în strat subţire se aseamănă foarte mult cu cromatografia pe coloană. În acest caz, faza staţionară este un adsorbant (silicagel, alumină) dispus pe un suport plan din sticlă sau metal, iar faza mobilă circulă de obicei prin capilaritate.

Cromatografia în strat subţire este o metodă utilă, utilitatea acesteia rezidă din următoarele avantaje:

- Permite separări pentru cantităţi foarte mici de substanţă (0,01 μg);
- Este o metodă accesibilă şi uşor de realizat;

BCU "ION CREANGĂ" UNIVERSITY LIBRARY

- Se efectuează într-un timp scurt;
- Permite separarea substanţelor instabile;
- Permite analiza simultană a mai multor probe;
- Permite analiza stadiului unei reacţii chimicc;
- Direct pe placa cromatografică se pot efectua reacţii chimice, cum ar fi: oxidări, reduceri, deshidratări, etc.

Tehnica generală a cromatografiei în strat subţire a fost pusă la punct de Stahl şi constă în obţinerea unui strat de adsorbant (silicagel, oxid de aluminiu) de aproximativ 250 μm grosime pe o placă de aluminiu sau de sticlă de dimensiuni variabile.

Numărul materialelor adsorbante folosite drept fază staţionară este relativ redus. Aceste materiale se pot clasifica în adsorbanţi anorganici şi adsorbanţi organici. Dintre aceştia, cei anorganici sunt cel mai des folosiţi deoarece sunt adsorbanţi puternici comparativ cu adsorbanţii organici, care sunt în general slabi.

Adsorbantul trebuie să aibă o suprafaţă specifică mare, respectiv o granulaţie fină (sub 100 μm) şi număr mare de pori pe diametru mic.

Eluenţi folosiţi:

Deoarece viteza de migrare a unei substanţe pe un adsorbant, cât şi rezoluţia separării depind de eluentul sau amestecul de eluenţi folosiţi, acesta trebuie să îndeplinească mai multe condiţii:

- Să permită obţinerea valorilor R_f ale componentelor de separat între 0,05 şi 0,9;
- Să separe complet toate componentele din amestec;
- Să nu producă transformări chimice ale substanţelor de separat;
- Nu trebuie să reacţioneze cu reactivii de identificare.

În tabelul 1 sunt prezentate câteva amestecuri eluotrope mai des utilizate în cromatografie.

Developarea:

După ce a fost pregătită plăcuţa cromatografică, aceasta se introduce în cuva cromatografică (de forma paralelipipedică sau cilindrică). Plăcuţa cromatografică se imersează în cuva cu eluent cu capătul la care s-au aplicat probele, iar cuva se acoperă pentru a asigura în interior o atmosferă saturată în

vapori de eluent. Este recomandat ca stratul adsorbant să fie imersat cât mai puţin posibil (3-4 mm, astfel încât eluentul să nu depăşească linia de start).

Tabelul 1. Amestecuri uzuale de solvenţi pentru cromatografie

Hexan	Cloroform:metanol = 95:5
Hexan:clorură de metilen =5:2	Cloroform:acetonă = 7:3
Benzen	Benzen:acetat de etil = 1:1
Benzen:cloroform = 1:1	Acetat de butil:metanol = 99:1
Cloroform	Benzen:eter = 1:9
Ciclohexan:acetat de etil = 8:2	Eter:metanol = 99:1
Cloroform:acetonă = 95:5	Eter
Benzen:acetonă = 9:1	Eter:dimetil formamida = 99:1
Ciclohexan:acetat de etil = 1:1	Acetat de etil
Ciclohexan:ester pentru testări = 8:2	Acetat de etil:metanol = 99:1
Benzen:acetonă = 8:2	Benzen:acetonă = 1:1
Cloroform:metanol = 9:1	Cloroform:metanol = 9:1
Cloroform:acetonă = 4:6	Dioxan
Benzen:acetat de etil = 1:1	Acetonă
Cloroform:eter = 6:4	Metanol
Acetat de butil	Dioxan:apă = 9:1

Oprirea developării se realizează atunci când frontul solventului ajunge la aproximativ 1 cm de marginea superioară a plăcuţei cromatografice. Se scoate plăcuţa cromatografică din cuvă şi se marchează cu un creion frontul solventului (linia până la care a urcat solventul pe plăcuţă). Plăcuţa cromatografică se usucă după developare în curent de aer liber sau în curent de aer cald (feon), în funcţie de volatilitatea eluentului.

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Identificarea compuşilor după developare. Cel mai simplu caz este cel al compuşilor coloraţi, care se observă direct pe cromatogramă, însă se întâlnesc situaţii în care compuşii, pentru a putea fi vizualizaţi, trebuie expuşi radiaţiei ultraviolete (UV).

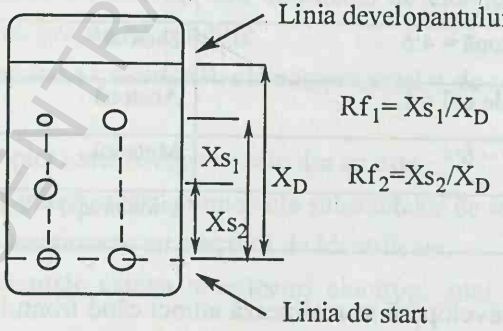
Există şi compuşi care trebuie scoşi în evidenţă prin reacţii de culoare specifice grupărilor funcţionale. În această situaţie pe cromatogramă se aplică reactivii de culoare, fie prin pulverizare, fie prin imersia plăcuţei cromatografice în soluţia acestora. După uscare se observă diferite spoturi, corespunzătoare componentelor din amestecul de analizat.

Determinarea valorilor R_f. Poziţia unui spot pe plăcuţa cromatografică se exprimă printr-o mărime ce caracterizează substanţa, şi o diferenţiază de celelalte, mărime numită factor de viteză (Rf) şi care se defineşte ca raportul dintre distanţa parcursă de spotul substanţei şi distanţa parcursă de developant.

$R_f = X_S/X_D \qquad 0 \leq R_f \leq 1$

Unde: X_S – reprezintă distanţa parcursă de la zona de start până la punctul unde ea se găseşte în momentul opririi developării.

X_D – reprezintă distanţa parcursă de la zona de start, de frontul developantului în acelaşi interval de timp.



Cromatografia solid-lichid

Separarea izomerilor geometrici prin cromatografie în strat subţire

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Mecanismul de separare a substanţelor se bazează pe repartiţia diferită a componenţilor unui amestec între o fază staţionară (solid adsorbant sau lichid depus pe suprafaţa unui adsorbant) şi o fază mobilă (lichid, eluent).

Faza mobilă străbate faza staţionară, iar componenţii amestecului de separat vor fi repartizaţi astfel diferit în funcţie de viteza lor de migrare. Cu cât componentul este mai puţin adsorbit pe faza staţionară cu atât viteza de migrare este mai apropiată de cea a fazei mobile, iar cu cât componentul va fi mai puternic adsorbit pe suprafaţa fazei staţionare cu atât moleculele sale vor sta un timp mai îndelungat imobile.

Afinitatea diferită a componentelor dintr-un amestec faţă de faza staţionară diferă în funcţie de capacitatea de adsorbţie a fazei solide. Substanţa solidă care adsoarbe se numeşte adsorbant. Astfel, se deosebesc adsorbanţi polari şi nepolari:

- adsorbanţi nepolari: cărbune activ, anumite răşini organice (de exemplu wofatit EW),
- adsorbanţi polari: oxid de fier (Fe_2O_3), oxid de aluminiu (Al_2O_3), silicagel, hidraţi de carbon (amidon, zahăr, celuloză).

Dintre aceşti adsorbanţi o importanţă deosebită o au cei polari. Adsorbanţii polari au afinitate mare faţă de componentele polare din amestec, acestea fiind puternic adsorbite pe suportul solid, iar componentele nepolare sunt antrenate foarte uşor de faza mobilă.

Pe lângă polaritate, adsorbabilitatea substanţelor organice depinde şi de mărimea moleculelor şi polarizabilitatea lor. Astfel se pot ordona substanţele organice în ordinea crescătoare a afinităţii lor faţă de adsorbanţii polari: derivaţi halogenaţi ai hidrocarburilor < eteri < amine terţiare, nitroderivaţi < esteri < cetone, aldehide < amine primare < amide acide < alcooli < acizi carboxilici.

Aceleaşi consideraţii sunt valabile şi pentru solvenţi adică o substanţă organică se adsoarbe mai puternic dintr-un solvent nepolar decât dintr-unul polar. Astfel substanţa adsorbită va fi dezlocuită de moleculele de solvent, dacă acestea au afinitate mai mare faţă de adsorbant decât de substanţă.

Condiţia principală impusă solvenţilor este anhidritatea completă, deoarece urmele de apă reduc semnificativ calităţile de adsorbţie ale fazei staţionare.

Pretratamentul şi prepararea probelor

Conversia analiţilor din probele de studiat în forma necesară analizei este cunoscută în literatura de specialitate ca operaţiune de pretratament. Este o operaţiune dificilă şi laborioasă în special datorită faptului că drogul/toxicul se găseşte aproape întodeauna împreună în amestec cu alte substanţe, în aşa-zise matrici. În cazul compuşilor de sinteză drogul/toxicul se găseşte combinat cu diverşi excipienţi şi/sau substanţe falsificate, iar pentru compuşii naturali din plante cu alte substanţe din plantă. În plus, în plante cantitatea de drog/toxic este foarte mică, în cele mai multe cazuri sub 1% din masa plantei.

În cazul probelor biologice (sânge, urină etc.) drogul/toxicul se găseşte fie sub forma conjugată (de exemplu glucuronoconjugat), fie ca metabolit şi doar foarte rar ca atare. În plus, ca şi la plante, cantitatea de drog/toxic din probele biologice este mică. Din aceste motive, în cazul probelor biologice, de obicei, sunt necesari mai mulţi paşi în pregătirea probelor:

- se realizează întâi scindarea substanţei din conjugat. Aceasta se realizează prin hidroliza acidă (metoda este rapidă), enzimatică (metoda este lentă) şi foarte rar bazică (posibilă doar la conjugaţii de tip esteric);
- urmează apoi izolarea. Aceasta se face fie prin extracţie, fie cromatografic, fie, foarte rar, prin cristalizare. Date pe larg despre aceste aspecte au fost prezentate anterior la V.3.1.;
- în unele cazuri este necesară o etapă suplimentară denumită derivatizare. Mai precis atunci când compuşii sunt polari (compuşii conţin grupări carboxilice, hidroxilice, tiolice, amino primare şi secundare, etc.) sau au o grupă puternic electronegativă (de exemplu $-CF_3$; halogen etc.), derivatizarea se impune cu necesitate. Principalele procedee de derivatizare sunt :
  a. Pentru droguri/toxice având caracter bazic: acetilarea, trifluoroacetilarea, pentafluoropropionilarea, heptafluorobutirilarea, trimetilsililarea;
  b. Pentru droguri/toxice având caracter acid: metilare, pentafluoro-propionilarea, trimetilsililarea, *tert*-butildimetilsililarea.

Referitor la extracţia drogurilor/toxicelor din probe, mai trebuie precizat că uneori este necesară modificarea pH-ului probei astfel încât să se realizeze

trecerea drogului în faza organică. pH-ul necesar se poate calcula cu ajutorul ecuaţiei Henderson-Hasselbach:

$$pH = pKa + \log ([A^-]/[HA])$$

unde: pKa este pKa-ul drogului/toxicului;
A^- este forma bazică(ionizată) a drogului/toxicului;
HA este forma acidă (neionizată) a drogului/toxicului.

Cunoscând valoarea pKa-ul drogului/toxicului şi valoarea pe care o dorim pentru concentraţia drogului/toxicului în forma neionizată (HA), se poate calcula cu uşurinţă pH-ul optim pentru trecerea în faza organică.

Prezentăm mai jos (Tabelele 2, 3) câteva sisteme extractive mai des utilizate pentru droguri şi pentru extracţii din materii prime vegetale (plante).

Tabelul 2. Sisteme extractive pentru droguri, în mediu acid sau bazic

Drogul extras	Sistem extractiv folosit
Morfina; hydromorfona; pentazocina; cocaina	NH_4OH-saturat/cloroform
Amfetamina; metamfetamina; 3,4-metilen-dimetoxiamfetamina; meperidina; efedrina	NH_4OH-saturat/hexan
Heroina; cocaina; pentazocina; meperidina; penciclidina	HCl-saturat/cloroform
Cocaina	NH_4OH-saturat/eter de petrol

Tabelul 3. Sisteme extractive pentru izolarea drogurilor din materii prime vegetale

Material din plante	Drog	Solventul şi procedeul de extracţie
Canabis	Canabioide	Cloroform (temperatura camerei); Eter petrol (temperatura camerei); Etanol (Soxhelet)
Frunze coca	Cocaina	Cloroform/eter de petrol/metanol (2:1:1)

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Opiu	Morfina	(temperatura camerei) Metanol (reflux); Sonicare în prezenţă de acid acetic 5%, apoi extracţie cu cloroform/metanol (3:1) la pH 8,5

Aplicaţii ale cromatografiei în medicina judiciară

Drogurile (aici incluzând şi medicamentele cu potenţial de drog) au constituit dintodeauna o clasă de compuşi de mare risc pentru oameni. Fie că sunt procurate licit sau ilicit, consumul abuziv de droguri constituie o problemă majoră a societăţii umane actuale. Potrivitraportului World Drug Report 2007, utilizarea abuzului de droguri (Drug Abuse, DA) pare să se fi stabilizat în ultimii ani, dar circa 200 de milioane de oameni încă mai folosesc droguri ilicite în fiecare an.

Drogurile care produc dependenţă consumatorilor, care pot reduce penal responsabilitatea unui inculpat, sau care pot reduce aptitudinile de a desfăşura anumite activităţi, trebuiesc monitorizate constant în organismul uman, cel mai adesea în fluide şi ţesuturi. Aceleaşi aspecte sunt vizate şi în controalele antidoping la sportivi, deoarece folosirea sau abuzul de medicamente care stimulează masa musculară, pentru a creşte nivelul de performanţă, duce la tulburări secundare nedorite cum ar fi reducerea în greutate, surmenaj, boli psihice etc.

În toxicologia medico-legală, separarea, identificarea şi dovedirea structurii diverselor substanţe, a căpătat o importanţă hotărâtoare atât în cazul drogurilor ilegale, cât şi în cazul otrăvurilor (introduse accidental sau cu scopuri criminale).

În ultimele decenii, cromatografia de gaze (GC), spectroscopia de masă (MS) şi tandemul GC-MS au cunoscut o dezvoltare spectaculoasă devenind practic metodele cele mai importante, performante şi uzuale în criminologie, permiţând atât separarea, cât şi identificarea diverselor clase de droguri. Pretratamentul diverselor tipuri de probe utilizate în toxicologia medico-legală a

BCUMF / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

condus şi la aprofundarea cunoştinţelor în ceea ce priveşte tehnicile analitice utilizate în acest sens: extracţie, cromatografie în strat subţire, derivatizare.

Probe care se utilizează în medicina judiciară. Pregătirea probelor pentru analiza în medicina judiciară impune prelevarea adecvată a probelor, conversia analiţilor din probele de studiat în forma necesară analizei, efectuarea cel puţin a unei măsurători analitice (dar de obicei sunt efectuate două) şi în final analiza, corelarea şi interpretarea datelor obţinute. Procesul de pregătire este complicat şi de faptul că probele utilizate sunt mai întotdeauna amestecuri complexe şi din acest motiv este necesară o cunoaştere aprofundată a caracteristicelor lor principale, care să permită alegerea metodei de analiză cea mai potrivită şi pe cale de consecinţă şi o interpretare corectă a datelor obţinute. Orice greşeală în procesul de prelevare şi manipulare a probelor poate duce la compromiterea lor.

În cazul drogurilor şi a toxicelor, ca reguli general valabile pentru toate laboratoarele de criminalistică, trebuie să se aibă în vedere următoarele aspecte:

1. Modalitatea în care drogul/toxicul este condiţionat şi transportat;
2. Tipurile de impurităţi, produşi de degradare, produşi secundari sau solvenţi care sunt prezenţi în probele de drog/toxic;
3. Modalitatea în care proba drogul/toxicul se prezintă: în formă pură, cu excipienţi, cu adaos de produşi denaturaţi sau falsificaţi.

Modalităţi de condiţionare şi transport a drogului/toxicului. Practica criminologică a demonstrat că drogul/toxicul poate fi condiţionat şi transportat în cele mai variate moduri, aceste modalităţi fiind limitate doar de imaginaţia infractorilor. Aşa spre exemplu: extasy ca şi tablete, capsule, pudră, mici bolovani; metamfetamina se poate prezenta ca şi cristale transparente („gheaţă"); heroina ca şi soluţie injectabilă, pulbere; clorhidratul de cocaină ca şi fulgi, cristale mari, pulbere fină, cărămizi; LSD-ul ca şi soluţie injectabilă sau impregnat în hârtie cu porozitate mare (hârtie de filtru) etc.

Tipurile de impurităţi, produşi de degradare, produşi secundari sau solvenţi care sunt prezenţi în probele de drog/toxic. O problemă importantă ridicată în consumul de droguri este „calitatea" lor, deoarece multe droguri conţin impurităţi. Aceste impurităţi pot fi produşi de degradare, produşi secundari sau produşi iniţiali de sinteză (în cazul drogurilor sintetice), solvenţi. Identificarea impurităţilor este importantă din punct de vedere al efectelor toxice

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

asupra organismului uman, unele dintre aceste impurităţi producând boli grave sau chiar moartea.

Identificarea impurităţilor este importantă şi din punctul de vedere al investigaţiilor criminalistice, deoarece poate furniza informaţii importante cu privire la:

- provenienţa probei: sintetică sau naturală;
- modalitatea de sinteză a drogului;
- zona din care provine, circulaţia drogului.

Dacă considerăm cazul cocainei, existenţa unor impurităţi în probe furnizează informaţii preţioase după cum urmează:

- prezenţa *cis-* sau *trans*-cinamoil-cocainei indică o *probă ilicită* extrasă din surse naturale;
- prezenţa acidului cinamic indică o *probă licită* extrasă din surse naturale;
- prezenţa ecgoninei, şi/sau metilecgoninei, şi/sau benzoilecgoninei, şi/sau acidului benzoic, şi/sau ecgonidinei, şi/sau metilecgonidinei, etilecgonidinei, şi/sau metilpseudoecgoninei indică o *probă licită* extrasă din surse naturale şi/sau produşi de degradare;
- prezenţa (+) cocainei, şi/sau pseudococainei, şi/sau alococainei, şi/sau pseudoalococainei indică natura sintetică a probei de cocaină.

Zona din care provine drogul, poate fi şi ea dedusă din compoziţia şi din cantitatea impurităţilor.

Cât priveşte prezenţa solvenţilor în probele de analizat, aceştia există atât în probele licite, cât şi ilicite, dar în cantităţi mai mari în acestea din urmă. Cei mai utilizaţi solvenţi în izolarea şi/sau prepararea drogurilor sunt acetona, eterul, metil etil cetona şi mai rar etanolul (în probe conţinutul este sub 1%).

Modalitatea de prezentare a drogului/toxicului. Din dorinţa de a obţine efecte narcotice mai puternice, adesea drogurile se asociază între ele sau cu alte substanţe. Amestecurile de droguri sau droguri-medicamente sunt frecvent întâlnite:

- heroina-penciclidina (PCP) („Sunshine");
- heroina-cocaina („Speedball");
- heroina-fentermin („Bam");
- morfina-tripelenamina („Blue Velvet");

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

- pentazocina-tripelenamina („T's and Blues");
- cocaina-metamfetamina („Hits or Loads");
- extasy-LSD („candy flipping");
- extasy-PCP („elephant flipping").

Amestecul de droguri şi excipienţi sau cu produşi care denaturează probele este, de asemenea, un caz de interes în medicina judiciară. Ca şi excipienţi se folosesc diverşi componenţi (în diverse forme de agregare), cum ar fi: diluanţi, lubricanţi, lianţi, coloranţi, dezintegranţi şi odorizanţi. Cei mai des întâlniţi excipienţi sunt: zaharurile (glucoza, lactoza, sucroza, fructoza etc.), caolinul (sulfat de bariu), talc, amidon, celuloza, vitamina C, sulfat de calciu, carbonat de calciu, bicarbonat de sodiu etc. De exemplu, în cocaina de calitate inferioară se găseşte o cantitate importantă de bicarbonat de sodiu.

Compuşii care denaturează proprietăţile probelor sunt frecvent utilizaţi pe piaţa ilicită a drogurilor. De exemplu: în heroină se adaugă chinina, care dă gustul amar al probelor, iar în cocaina contrafacută se adaugă acid benzoic, care dă miros specific (proprietăţi asemănătoare probelor autentice).

Probele biologice

În mod obişnuit, cele mai utilizate probe biologice în medicina judiciară sunt fluidele biologice şi ţesuturile. O parte dintre aceste droguri/toxice sunt metabolizate (parţial sau total), ceea ce duce la apariţia în fluidele biologice a unor metaboliţi.

Cele mai comune fluide biologice sunt sângele, plasma sau serul, urina şi saliva. Probele neconvenţionale, în special păr, unghii şi oase, au început şi ele să câştige teren în medicina judiciară.

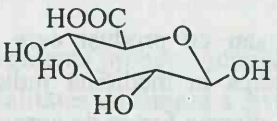
Metabolizarea drogurilor/toxicelor. Odată pătruns într-un sistem biologic, drogul/toxicul suferă procese de metabolizare. În urma acestor procese drogurile/toxicele sunt transformate în substanţe mai puţin toxice, cu structură mai simplă. În prezent, căile de metabolizare şi de degradare a cvasimajorităţii drogurilor, precum şi structura metaboliţilor, sunt cunoscute.

Metabolizarea drogurilor este împărţită în două etape:

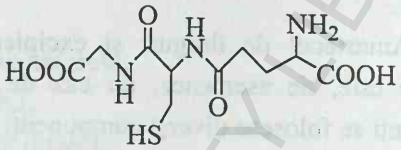
- faza metabolică I sau faza reacţiilor metabolice, cuprinde reacţiile de hidroliză, oxidare şi reducere;

BCU IAŞI - CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

- faza metabolică II sau faza reacţiilor de conjugare, care cuprinde procesele de conjugare ale substanţelor cu diverşi compuşi din organism cum ar fi aminoacizi (glutation, glutamina etc.) şi acidul glucuronic.



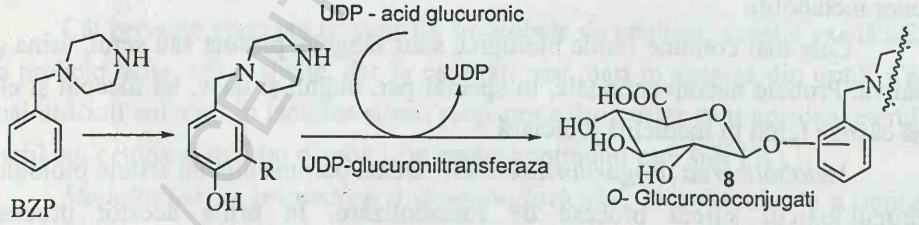
Acid glucuronic



Glutation (GSH)

De obicei, în faza I se produc grupări funcţionale care dau reacţii de conjugare în faza II. Aceste biotransformări se pot opri la grupări funcţionale şi conjugaţi ai drogului/toxicului şi/sau pot fi mult mai profunde, conducând la produşi cu structură mult mai simplă.

Exemplu: metabolizarea benzilpiperazinei (BZP; drog analog morfinomimetic). Astfel, după hidroxilarea sau dubla hidroxilare a BZP rezultăo serie de metaboliţi. Toţi produşii de hidroxilare ai BZP sunt transformaţi în *O*-glucuronoconjugaţi. Acest proces este realizat sub acţiunea coenzimei UDP-acid glucuronic (acid uridin 5'-fosfo-α-D-glucuronic) şi este catalizat de enzima UDP-glucuroniltransferaza. Oxidarea BZP conduce iniţial la aldehida benzoică, care este oxidată mai departe la acid benzoic.



Aceşti produşi de metabolizare se elimină prin urină şi se pot determina prin GC-MS. Spectrele de masă ale BZP, piperazinei, benzilaminei şi acidului benzoic se găsesc în bazele de date.

Toxicocinetică. Orice substanţă (drog, toxic, medicament) poate pătrunde într-un organism viu pe diverse căi, cele mai importante fiind orală (ingestie), parenterală (intravenos, intramuscular, subcutanat etc.), respiratorie, contact cu pielea sau mucoasele. O dată introduse în organism aceste substanţe suferă fenomentul de absorbţie, transport, distribuţie, metabolizare, eliminare.

Procesul de absorbţie a unei substanţe începe practic din momentul încare substanţa a fost introdusă în ţesutul viu, şi depinde de tipul substanţei (hidrosolubilă, liposolubilă, mărime, pH etc), de modul de administrare, mecanismul de absorbţie şi de locul unde este absorbită majoritar substanţa, după cum urmează:

- ingestia orală conduce la o absorbţie majoritară la nivelul stomacului şi al intestinului, printr-un mecanism de difuzie;
- inhalarea conduce la o absorbţie majoritară la nivelul plămânilor, prin mecanismul de difuzie şi/sau filtrare;
- administrarea parenterală conduce la absorbţia cea mai eficientă; administrarea intravenoasă introduce direct substanţa în circulaţie, iar administrarea intramusculară şi subcutanatăpresupune difuzia substanţei prin muşchi sau ţesuturi, urmată de intrarea ulterioară în circuitul sanguin;
- administrarea la nivelul tegumentelor şi mucoaselor, conduce la absorbţia prin difuzie a substanţei.

O dată ajunse în sânge, substanţele sunt distribuite spre diverse ţesuturi. Procesul de distribuţie depinde din nou de tipul substanţei, de tipul ţesutului, etc. În tabelul 4 este prezentată distribuţia (procentuală) a cocainei şi amfetaminei în diverse organe (valori medii).

Tabelul 4. Probe biologice: distribuţia cocainei şi amfetaminei în sânge, diverse organe şi urină

Drog	pKa drog	Sânge	Creier	Ficat	Rinichi	Urină
Amfetamina	9,9	9	3	30	17	35
Cocaina	8,6	5	7	5	15	50

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Practic, majoritatea substanţelor ajung prin sânge în ficat, unde fie sunt metabolizate, fie sunt excretate ca atare înapoi în sânge sau în bilă, de unde sunt eliminate prin materiile fecale şi urină. În principiu, substanţele hidrosolubile se elimină în bilă şi apoi în fecale, pe când cele liposolubile sunt retrimise în sânge şi se elimină prin urină.

Fluidele biologice

Fluidele biologice sunt practic cele mai utilizate probe în medicina judiciară. Analiza acestor probe depinde de o serie de factori, dar în general este admis că, cu cât o probă este mai fluidă cu atât este mai uşor analizată. În tabelul 5 este prezentată ordinea descrescătoare a scăderii fluidităţii probelor biologice. Se observă că cel mai uşor de analizat va fi lichidul cefalorahidian (LCR) şi cel mai greu sunt oasele.

Tabelul 5. Fluide biologice: ordinea descrescătoare a scăderii fluidităţii

Lichide	LCR
	Lacrimi
	Sudoare
	Salivă
	Urină
	Bilă
Amestec	Plasmă/ser
	Sânge
	Materii fecale
	Inimă/ficat/rinichi
	Plămâni/muşchi
	Oase

Sângele constituie una dintre cele mai accesibile tipuri de probă din medicina judiciară modernă. În practica toxicologică este preferată utilizarea plasmei după deproteinizarea plasmaticăa acesteia cu un solvent organic.

Urina. Spre deosebire de sânge/plasma, urina are un conţinut mult mai mic de proteine ceea ce o face mult mai uşor de analizat (în prealabil se face

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

extracţie din urină cu un solvent organic). Există o serie de impedimente în cazul folosirii acestor probe: cantitatea de urină, pH-ul şi timpul dintre prelevarea probei şi administrarea substanţei. Cu toate acestea, analiza probelor de urină este în special efectuată în cazul testărilor de medicamente (determinarea dopingului la sportivi).

Saliva. Folosirea probelor de salivă prezintă avantaje şi dezavantaje comparativ cu probele clasice de sânge şi de urină. Probele de salivă se utilizează fără a fi nevoie de extracţie, pot fi determinate atât substanţele, cât şi metaboliţii lor, colectarea lor este mai puţin invazivă, degradarea probelor decurge mai greu.

Ţesuturi postmortem. Alegerea unui ţesut postmortem pentru analiză depinde de tipul de drog/toxic/medicament căutat. De exemplu, în cazul în care se suspectează un deces datorat unei supradoze de morfinomimetice este recomandată prelevarea de probe din bilă, în cazul otrăvirilor cu cianuri şi solvenţi se preferă probele de creier, iar pentru otrăviri cu metale grele se preferă probele din rinichi.

Cele mai utilizate ţesuturi postmortem pentru analize sunt recoltate din ficat, creier, bilă, umoarea vitroasă, sânge, conţinut stomacal, precum şi muşchii şi rinichii (mai puţin utilizaţi).

Ficatul este unul dintre organele preferate în analiza forensică, în special în cazul drogurilor. Fiind un organ vascularizat puternic, concentraţia drogurilor este în general egală cu cea din plasmă. Unele droguri pot fi găsite ca atare sau sub formă de metaboliţi în bilă, cazul opiaceelor.

Creierul fiind relativ rezistent la putrefacţie, este organul preferat în analiza de droguri atunci când analiza se face la câteva zile după moartea persoanei.

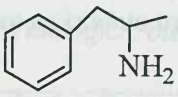
Ca şi în cazul creierului, umoarea vitroasă este rezistentă la putrefacţie şi în consecinţă probele sunt mai uşor de analizat.

Prezenţa de urme sau lipsa unui drog/toxic/medicament din stomac indică că ruta de administrare este alta decât cea orală.

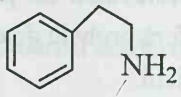
Folosirea probelor de ţesuturi postmortem este limitată de o serie de dificultăţi datorate procesului de putrefacţie a celulei. Cele mai importante dificultăţi sunt:

1. Datorită procesului de putrefacţie se produc compuşi care pot interfera cu substanţa (drog/toxic/medicament) de analizat;
2. Există substanţe care se descompun în urma procesului de putrefacţie;
3. Pretratamentul probelor postmortem poate presupune proceduri mai dure care face ca substanţa de analizat să nu reziste;
4. Substanţele şi metaboliţii pot suferi procese de redistribuţieîn ţesuturile postmortem, ceea ce îngreunează interpretarea datelor obţinute.

Substanţele rezultate în urma procesului de putrefacţie pot avea caracter bazic (amine biogene în special), acid (acizi organici inferiori) sau neutru. De exemplu, din categoria substanţelor având caracter bazic rezultate în urma procesului de putrefacţie, unul dintre compuşii reprezentativi este β–feniletilamina, care pot interfera cu substanţe din clasa amfetaminelor dând reacţii fals pozitive.



Amfetamina



β-Feniletilamina

Probe neconvenţionale

Sub denumirea de probe neconvenţionale sunt cunoscute acele probe care sunt utilizate mai rar în medicina judiciară (păr, unghii, oase, salivă, lichid seminal). Dintre aceste tipuri de probă, părul este de departe proba judiciară cea mai utilizată.

Părul. Astăzi, GC/MS este deja metoda preferată de analiză a probelor de păr, tinzând să devină una de rutină. Practic toate tipurile de drog/toxic se acumulează în păr şi pot fi detectate ca atare (nu ca metaboliţi sau produşi de degradare), perioada de remanenţă a drogului în păr este mare (săptămâni sau chiar luni).

Cu toate avantajele incontestabile pe care le prezintă utilizarea părului în medicina judiciară, utilizarea lui este încă limitată datorită unor neajunsuri:

- nu se cunosc cu exactitate procesele biochimice de absorbţie şi de metabolizare a drogurilor în păr;
- influenţa contaminanţilor externi. În prezent este admis că drogurile/toxicele pot intra în păr pe două căi: încorporarea în procesul

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

de creştere (din sânge) şi adsorbţie din mediul extern (secreţiile din transpiraţie şi sebum, expunerea la aerosoli, fum etc);

- procedurile de colectare pentru analiza firului de păr nu au fost standardizate (cel mai adesea din zona de la partea din spate a capului, numit vertex posterior).

Pregătirea probelor reprezintă o etapă de importanţă crucială în analiza GC/MS. Pregătirea probelor este o operaţiune complexă care necesită din partea specialistului care efectuează această operaţiune cunoştinţe avansate de separatologie şi în special o temeinică stăpânire a operaţiilor/metodelor de bază privind izolarea şi purificarea compuşilor organici. Două dintre aceste metode sunt indispensabile pentru specialiştii în medicina judiciară: extracţia şi cromatografia.

Derivatizarea chimică în medicina judiciară

Derivatizarea se defineşte ca fiind procesul de conversie a unui analit dintr-o probă de studiat într-o formă diferită a sa, care poate fi analizată prin diverse metode fizico-chimice. *Derivatizarea chimică* este folosită pe scară largă în medicina judiciară, deoarece există compuşi (în special cei cu polaritate mare) ce nu pot fi analizaţi prin GC-MS în starea lor originală. Derivatizarea posedă o serie de avantaje şi dezavantaje, de care trebuie să se ţină cont. Avantajele derivatizării substanţelor sunt incontestabile:

- îmbunătăţirea unora dintre proprietăţile fizice;
- îmbunătăţirea proprietăţilor cromatografice, în special a capacităţii de separare;
- îmbunătăţirea capacităţii de detecţie prin spectrometrie de masă.

Reacţii chimice utilizate în procesul de derivatizare. Cele mai utilizate reacţii chimice din procesul de derivatizare sunt alchilarea, acilarea şi sililarea.

Metode practice de derivatizare. Practic, în acest moment, există metode de derivatizare bine puse la punct pentru toate clasele de compuşi de interes din medicina judiciară şi toxicologie.În cele ce urmează vom prezenta sintetic câteva metode de lucru experimentale de derivatizare pentru principalele tipuri de funcţiuni.

Pentru funcţiunea amino sunt utilizate mai multe proceduri de derivatizare:

BCU MEDICINA UNIVERSITY LIBRARY

- derivatizare prin procedee de sililare: TMS, TBDMS;
- derivatizare prin procedee de acilare: TFA, Ac-Anh;
- drivatizare prin procedeul metilare: DMF-dimetha.

Derivatizarea prin procedeul TMSpresupune faptulcăhidrogenul grupării funcţionale amino dintr-un compus organic este înlocuit cu o grupare trimetilsilil, şi în consecinţă în spectrul GC-MS se va înregistra o creştere de masă cu 72 unităţi pentru fiecare grupare amino.

Funcţiunea hidroxil, -OH, poate fiderivatizată prin:

- procedeul TMS
- procedeul TBDMS
- procedeul acetil.

Funcţiunea carboxil, -COOH, proceduri de derivatizare:

- derivatizare prin procedee de sililare: TMS, TBDMS;
- derivatizare prin procedeul de metilare: DMF-dimetha, Me-OH.

Determinări şi identificări diverse

Identificarea morfinei. Reacţii de precipitare:Morfina şi congenerii săi dau precipitate cu reactivii generali ai alcaloizilor.

Reacţii de culoare:

a) Morfina dă coloraţii cu amestecul de acizi cu diferite săruri.

b) *Reacţii date de hidroxilul fenolic*:

- Reziduul dă o coloraţie albastră sau verde albastră cu $FeCl_3$ 1% proaspăt preparată;
- Reziduul tratat cu HCl 0,1 N şi 0,5 ml HIO_3 10% prezintă o culoare galbenă, prin eliberarea iodului de către grupa OH fenolică, reducătoare. Iodul se poate extrage cu $CHCl_3$, care se colorează în roşu-violet.
- Reziduul tratat cu 3-4 picături de fericianură de potasiu 10% şi 2 picături soluţie $FeCl_3$ 1% (proaspăt preparată) dă o culoare albastră.

c) *Reacţia de diazotare (reacţia Erlich)*:

Se dizolvă reziduul în HCl 10% şi se tratează cu reactiv Erlich (5 ml soluţie A şi 3 picături soluţie B). Se agită şi se alcalinizează cu $NaHCO_3$, când apare o coloraţie roşie, care trece în portocaliu prin acidulare. Reacţia este

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

negativă pentru derivaţii morfinei care posedă o grupare -OH fenolică substituită.

Reactivul Erlich se prepară astfel: soluţia A – 0,5 g acid sulfanilic, 5 ml HCl concentrat şi se completează cu un volum de 100 ml de apă; soluţia B – nitrit de potasiu 0,5%.

d) *Reacţia apomorfinei (reacţia Denigés)*:

Se încălzeşte reziduul pe B.M. cu 5-6 picături H_2SO_4 concentrat până la uşoară brunificare. Deshidratarea cu H_2SO_4 conduce la formarea apomorfinei. Se adaugă 3-4 ml soluţie saturată de acetat de sodiu pentru tamponare. Se transvazează într-o eprubetă şi se adaugă 2 picături $HgCl_2$ 5%. La încălzire pe B.M., se dezvoltă o coloraţie verde sau verde-albastră.

e) *Reacţia Denigés*:

Se tratează reziduul cu 4-5 picături HCl concentrat, 2-3 picături H_2O_2, şi 1-2 picături sulfat de cupru amoniacal, când se obţine o coloraţie roşie intensă.

f) *Reacţia cu nitrit*:

Reziduul se dizolvă în 2 ml H_2SO_4 10% şi se tratează cu 0,1 ml nitrit de sodiu 10%; se formează 2-nitrozomorfina care, prin alcalinizare cu amoniac, dezvoltă o culoare roşie colorimetrabilă.

Alţi alcaloizi

a) *Test de orientare*

Reziduul de la vaporarea alcoolului, pentru produsele solide, comprimate şi soluţii, precum şi substanţele cristalizate sunt dizolvate în 2 ml HCl, 1N. O porţiune din soluţiile obţinute sunt tratate cu reactiv Dragendorff pentru a verifica formarea de precipitat în cazul prezenţei unui alcaloid. În caz afirmativ, restul lichidelor este împărţit în 5 porţiuni şi evaporat, la sec, în capsule. În capsula l se execută reacţia apomorfinei. În celelalte 4 capsule, se adaugă câte 10 picături de H_2SO_4 concentrat şi apoi 2 picături de reactiv Fröhde în capsula 2, o picătură soluţie $FeCl_2$ 10% în capsula 3, două picături de reactiv Marquis în capsula 4 şi două picături de reactiv Lafon în capsula 5. Se compară coloraţiile apărute cu datele din tabelul 6.

b) Reacţia deculoare pentru heroină (reacţia Waxmuth).

Soluţia apoasă de heroină se încălzeşte în mediu alcalin cu clorhidrat de hidroxilamină; se formează acid hidroxamic (de la radicalul acetil). După

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

neutralizare, se tratează cu o soluţie de $FeCl_3$, când apare o coloraţie roz-violacee, colorimetrabilă.

Cromatografie. Revelarea se realizează prin pulverizare cu: iodoplatinat (culoare roşcată pentru toţi derivaţii naturali, semisintetici şi sintetici); reactiv Dragendorff (culoare portocalie pentru petidină); reactiv Marquis (culoare violetă pentru morfină).

Tabelul 6. Reacţii de culoare (după Castagnou şi Clarke)

Compusul	Reacţia apomorfinei (Denigés)	Reacţia cu $H_2SO_4 - FeCl_3$	Reactiv Fröhde	Reactiv Marquis	Reactiv Lafon	Reactiv Mandelin
Morfina	Verde	Violaceu	Violet	Violet	Verde	Albastru cenuşiu
Codeina	Verde	Albastru deschis	Verde	Violet	Verde intens	Verde
Pantopon (hexapon)	Verde	Violaceu	Violet	Violet	Verde	
Heroina	Verde	Albastru deschis	Violet	Violet	Verde	Albastru cenuşiu
Hidromorfona	Negativă	Negativă	Violet trece în verde	Galben trece în vişiniu	Negativă	Vişiniu trece în portocaliu
Hidrocodona	Negativă	Negativă	Verde trece în albastru	Galben trece în vişiniu	Negativă	Negativă
Nalorfina	Verde	Negativă	Violet trece în verde	Violet	Albastru (incert)	Negativă
Petidina	0	0	0	Roşu-portocaliu (colorimetrabil)	0	Negativă
Metadona	0	0	0		0	Verde albastru (slab)

Spectrofotometrie în UV şi IR. ***Morfina*** prezintă maxime de absorbţie în UV la 287 nm (etanol), 284 nm (H_2SO_4 0,1 N) şi 250 nm (NaOH 0,1N). Forma clorhidrat prezintă un maxim de absorbţie la 285 nm (apă). Celelalte narcotice

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

prezintă benzi de absorbţie în UV şi IR caracteristice (Tabelul 7), datorate nucleelor benzenice şi grupărilor funcţionale adiacente.

Dozare:

1. Metoda colorimetrică cu nitrit de sodiu

Morfina, în mediu de acid sulfuric sau clorhidric diluaţi, reacţionează cu nitritul de sodiu pentru a forma 2-nitrozomorfina, de culoare galbenă. Aceasta se colorează în roşu prin alcalinizare cu amoniac.

Reactivi: 1. H_2SO_4 10%; 2. Nitrit de sodiu 10%; 3. NH_4OH 25%; 4. Soluţie etalon de morfină (10 mg morfină bază dizolvată în 10 ml H_2SO_4 10%).

Modul de lucru: reziduul de morfină de la extracţia în mediul alcalin cu cloroform este reluat cu 10 ml de H_2SO_4 10% şi trecut într-o eprubetă gradată cu dop. Se iau 5 ml din această soluţie şi se tratează cu 0,5 ml azotit de sodiu 10%. După 5 minute, se adaugă 2 ml amoniac şi se citeşte extincţia în cuva de 1 cm la λ = 415 nm faţă de o probă oarbă. În condiţii identice, se realizează o curbă de etalonare cu cantităţi între 50 şi 500 micrograme probă (0,05-0,5 ml soluţie etalon completat la 5 ml cu H_2SO_4 10%).

2. Metoda colorimetrică cu acid fosfomolibdenic

În mediul amoniacal, morfina reduce acidul fosfomolibdenic la molibdat de molibdil (albastru de molibden), colorimetrabil.

Reactivi: 1. H_2SO_4 10%; 2. Acid fosfomolibdenic 1% în alcool; 3. Amoniac concentrat; 4. Soluţie etalon de morfină (1 mg/ml).

Modul de lucru: reziduul de morfină de la extracţia în mediul alcalin cu cloroform este reluat cu 10 ml H_2SO_4 10% şi trecut într-o eprubetă gradată cu dop. Se iau apoi 2,5 ml din această soluţie şi se tratează cu 2 ml acid fosfomolibdenic1% şi 1 ml amoniac concentrat. Se citeşte extincţia în cuva de 1 cm la λ = 570 nm faţă de o probă oarbă. În condiţii identice, se realizează o curbă de etalonare cu cantităţi între 50 şi 500 micrograme probă (0,05-0,5 ml soluţie etalon completat la 2,5 ml cu H_2SO_4 10%).

BCU IAŞI - UNIVERSITY LIBRARY

Tabelul 7. Valorile absorbţiilor maxime în UV şi IR ale morfinei şi compuşilor înrudiţi (după Clarke, 1971)

Compusul	UV (maxime, nm)						IR (în KBr, cm^{-1})		
	H_2O	etanol	HCl 0,1N	HCl 0,01N	H_2SO_4 0,1N	NaOH 0,1N	A	B	C
Morfina bază		287			284	250	805	1243	945
						296		1448	1118
Morfina HCl	285								1475
Codeina bază		286					1052	1268	1500
Heroina bază		281			279	278			
Hidromorfina					281				
Hidrocodona		280			280				
Nalorfina bază			283		285		1505	1466	1121
									1155
									1304
Petidina bază		252							
		258							
		264							
Petidina HCl					251		1708	1216	1166
					252				1160
					557				
					563				
Metadona bază					253				
					259				
					292				
					565				
Dextromoramida bază				256					
				260					
				264					

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Alcaloizii din cornul secarei

Cromatografie. Revelarea se face prin expunere în lumină ultraviolet (fluorescenţă albastru intens), pulverizare cu permanganat sau cu para-dimetilaminobenzaldehidă.

Spectrofotometrie în UV

Ergotamina bază, 315 nm (H_2SO_4 0,1N);

Ergotamina tartrat, 239 şi 317 nm (acid tartric 10%);

Ergobazină bază, 312 nm (H_2SO_4 0,1N).

Identificarea alcaloizilor din ergot. Un amestec global de alcaloizi se identifică în extractul eteric (din vomă, spălături stomacale, corp delict), care se împarte în patru porţiuni:

- La încălzire cu KOH 10% se degajă un miros urât;
- La tratarea cu 5 ml soluţie de oxalat de sodiu 5%, apare o coloraţie roşie;
- La tratarea cu 5 ml H_2SO_4 apare o coloraţie portocalie şi un inel albastru la delimitarea celor două lichide;
- La agitarea cu $NaHCO_3$, apare o coloraţie roşie-violetă.

Nicotina – aspecte analitice

Toxicologie analitică

Izolare

- Izolare din organe, lichide biologice, soluţii insecticide: prin metoda Stas-Otto-Ogier sau prin antrenare cu vapori de apă.
- Izolare din urină:
  1. Prin antrenare cu vapori de apă după alcalinizarea urinei la pH 11-12 cu NaOH 10%; se culege distilatul în HCl 0,1 N. În aceste condiţii nu sunt antrenaţi, alături de nicotină, şi compuşi cu structură similară, ca amida acidului nicotinic, prezentă în mod normal în organism.
  2. Prin extragerea cu cloroform a urinei alcalinizate la pH 11-12 cu NaOH 10%; se repetă extracţia de 2- 3 ori; peste extractele cloroformice reunite se adaugă1-2 picături de HCl 0,1 N şi se evaporă la 40-50 °C.

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

- Izolare din atmosferă: aerul se barbotează prin H_2SO_4 diluat.
- Izolare din tutun: se macerează tutunul într-o soluţie alcalină timp de 30 de minute. Se filtrează şi se extrage cu cloroform. Se repetă extragerea de două ori. Extractele cloroformice reunite sunt evaporate. Se reia reziduul cu CH_3COOH 1%.

Identificare

1. *Reacţia de precipitare.* Nicotina dă precipitate cu reactivii generali ai alcaloizilor, fiind sensibilă la reactivii Bouchardat, Dragendorff şi Sonnenschein. Cu reactivul Hager, nicotina formează picrat de nicotină, cristale cu punctul de topire de 217 °C.
2. Reacţii de culoare
   a) Reacţia König: 5 ml soluţie de analizat se neutralizează cu acid acetic 10%, sau HCl 10%. Se adaugă 1 ml soluţie de bromcian, proaspăt preparat şi se menţine 2 minute pe baie de apă la 80 ^{0}C. Se adaugă 3 ml soluţie de acetat de benzidină 1% şi 2 ml HCl 20%. Apare o coloraţie galben-portocalie colorimetrabilă. Reacţia este caracteristică nucleului piridinic, care sub acţiunea bromcianului se desface cu formare de aldehidă glutaconică: aceasta, prin condensare cu o amină primară, dă o aldimină galben-portocalie. Sensibilitatea reacţiei este de ordinal microgramelor. Bromcianul se prepară adăugând la apa de brom saturată, o soluţie de KCN 10% până la decolorare. Se mai poate utiliza bromtiocian, mai puţin toxic, preparat din tiocianat de potasiu în loc de KCN.
   b) Reacţia cu p-dimetilaminobenzaldeidă: se tratează soluţia de nicotină cu 1- 2 ml soluţie de p-dimetilaminobenzaldehidă 10% în HCl concentrat când apare o coloraţie violetă.
   c) Reacţia cu epiclorhidrină: se dizolvă o parte din reziduu în 2-3 ml epiclorhidrină, se încălzeşte, când apare o coloraţie roşie.
3. Reacţii microcristalografice.
   a) Reacţia Roussin: se dizolvă o parte din reziduu în eter şi se adaugă o soluţie eterică de iod 2-3%. Se prepară un lichid uleios roşu-brun, din care precipită după câteva ore cristale aciculare roşii-rubinii, de

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

iodnicotină. Hiosciamina dă, în aceleaşi condiţii, cristale brun-închis.

b) Reacţia Dragendorff: dacă peste o picătură de nicotină-bază se adaugă o picătură de reactive Dragendorff, se formează cristale roşii închis, până la negru, care se prezintă la microscop sub formă de „păsări în zbor". Sensibilitate: 1 μg nicotină.

4. Cromatografie

Revelarea se realizează prin expunere la lumina UV (pată întunecată) prin pulverizare cu iodoplatinat şi verde de bromcrezol sau prin reacţia König (separă nicotina de ceilalţi alcaloizi din tutun).

5. Spectrofotometrie

a) UV (maxime)

Nicotina bază: 260 nm (H_2SO_4 0,1N), 257 nm, 262 nm (NaOH 0,5 N);

b) IR (în KBr):

Nicotina bază: A (712 cm^{-1}); B (1429 cm^{-1}); C (810 cm^{-1} şi 1022 cm^{-1}).

6. Test fiziologic.

Prin injectarea clorhidratului de nicotină în sacul limfatic al broaştei se obţine „poziţia nicotinică").

Dozare

Doze toxice la animale: iepure, 5 mg/kg per os, 0,5 mg/kg subcutanat şi 0,3 mg/kg intravenos; şobolan – 7 mg/kg per os.

Stricnina

1. *Izolare*

Izolare din organe: Stricnina se extrage cu cloroform sau eter din lichidul alcalinizat în prealabil. Dacă interesează numai stricnina, aceasta poate fi extrasă cu cloroform direct din lichidul apos, fără alcalinizare.

Izolare din lichide biologice: se alcalinizează lichidul de analizat cu NaOH 0%. Se extrage de trei ori într-o pâlnie cu cloroform. Extractele cloroformice reunite sunt filtrate şi evaporate la sec pe baie de apă.

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Izolare prin metoda Graham-Hoffmann: se adaugă acid oxalic şi se macerează la cald produsul biologic de analizat. Se filtrează, iar filtratul se agită cu cărbune activat pentru a se absorbi oxalatul de stricnină. Se filtrează, se spală cu apă şi se fierbe cărbunele cu alcool 90°C la reflux. Se separă astfel, prin desorbţie, oxalatul de stricnină. Se filtrează şi se evaporă solventul. Reziduul este reluat cu apă alcalinizată. Se extrage stricnina-bază cu cloroform.

Izolarea stricninei în prezenţa brucinei: proba de analizat se tratează cu 3-5 ml H_2SO_4 5%, se încălzeşte pe baie de apă la 50 °C, timp de 20 minute; în soluţia caldă, se adaugă 1-2 ml HNO_3 fumans şi se continuă încălzirea încă 10 minute. În acest fel, brucina trece în cacotelină, iar stricnina rămâne ca atare. Se alcalinizează cu amoniac cloroformic, iar fractiile sunt reunite, filtrate şi evaporate la sec.

2. *Identificare*

Reacţii de precipitare: stricnina şi brucina dau precipitate cu reactivii generali ai alcaloizilor. Cu acidul picric (reactiv Hager), stricnina formează cristale caracteristice, în formă de „dinţi de fierăstrău".

Reacţii de culoare:

Reacţia Bauer. Peste reziduu se adaugă o picătură de soluţie 10% de $K_2Cr_2O_7$ şi se evaporă la sec pe baie de apă. După răcire, reziduul se reia cu H_2SO_4 (90 g H_2SO_4 concentrat + 36 g H_2O). Apare o coloraţie violetă care trece prin roşu deschis la incolor. Sensibilitatea reacţiei este de 1 μg. În locul bicromatului de potasiu, se pot utiliza şi alţi oxidanţi (oxid de ceriu, bioxid de mangan, bioxid de plumb). Ptomainele interferă, iar folosirea ca oxidant al fericianurii de potasiu înlătură această interferenţă.

O variantă a reacţiei Bauer este următoarea: pe o sticlă de ceas, se adaugă reziduul, câteva cristale de bicromat de potasiu şi 3-4 picături de H_2SO_4 concentrat. Se trasează linii cu o baghetă, iar în urma baghetei apar striuri violete care virează în roşu, după care dispar. Reacţia este mascată de impurităţile organice (dacă purificarea nu a fost bună) care dau o coloraţie brună, prin carbonizare cu H_2SO_4 concentrat.

Reacţia Malquin. Reziduul se reia cu 3-4 ml HCl concentrat şi 1-2 granule de amalgam de zinc. Se fierbe câteva minute. După răcire, se decantează şi se tratează cu o picătură de $NaNO_2$ 0.1% când apare o coloraţie roz-roşie stabilă, colorimetrabilă.

Reacţia Mandelin. Prin tratarea probei cu reactivul Mandelin se obţine o coloraţie albastru-violetă care virează în roşu prin adăugare de apă sau prin alcalinizare. Sensibilitatea reacţiei este de 1 μg.

Reacţia Prudhomme. Prin tratarea probei cu roşu de bromcrezol sau metilorange, stricnina formează un complex colorat, extractibil cu cloroform.

Reacţia Noll. Reziduul este tratat cu 1-2 picături de HNO_3 concentrat şi câteva picături de H_2SO_4 concentrat. În prezenţa *brucinei* apare o coloraţie roşie, care virează în portocaliu, apoi în galben, prin formarea cacotelinei (hidrat de nitrobrucinchinonă). Dacă se tratează soluţia galbenă de cacotelină cu clorură stanoasă sau sulfură de amoniu, apare o coloraţie violetă, datorată produsului de reacţie.

- Reacţia cu clorat: brucina din reziduu dă, la încălzire cu câteva picături de H_2SO_4 diluat şi 2-3 cristale de $KClO_3$, o coloraţie roşie.

- *Reacţia cu apa de brom*: reziduul tratat cu câteva picături de apă de brom şi evaporat sec pe baie de apă lasă un depozit amorf de *dibrombrucină.*

- *Cromatografie.* La cromatografia pe hârtie şi în strat subţire, revelarea se realizează prin expunere la lumina UV (adsorbţie puternică, pată întunecată) sau prin pulverizare cu iodoplatinat.

Spectrofotometrie în UV şi IR

a) UV (maxime)

- stricnina bază: 255 nm (etanol, H_2SO_4 0.1N);
- brucina bază: 267 şi 301 nm (etanol), 265 şi 300 nm (H_2SO_4 0,1N).

b) IR (KBr)

- stricnina bază: A (1664), B (764, 1392), C (1480);
- brucina bază: A (1500, 1649), B (1190, 1285, 1400, 1450).

Testul fiziologic

Stricnina bază se tratează cu HCl 1%, se evaporă la sec pe baie de apă, se reia cu 1 ml H_2O şi se injectează în sacul limfatic sau se picură pe pielea unei broaşte. În cazul injectării apar, la câteva minute, convulsii tonicoclonice, iar animalul se aşează în poziţia opistotonus, în arc (opiston = pe spate, tonos = tensiune). În cazul picurării efectele apar în 30 minute-3 ore. Se poate identifica astfel 1 μg de stricnină.

BCU "CAROL I" CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Identificarea stricninei în prezenţa brucinei

Reziduul este tratat cu HNO_3 şi H_2SO_4, când apare culoarea roşie virând în galben (reacţia Noll pentru brucină). În soluţia galbenă, se adaugă câteva cristale de bicromat, când se dezvoltă culoarea violetă (reacţia Bauer pentru stricnină).

Separarea electroforetică

Se foloseşte ca electrolit, în electroforeza pe hârtie, acid formic 2N. Revelarea se realizează cu reactivul Munier-Macheboeuf (Dragendorff modificat). Se disting două zone electroforetice, cea mai apropiată de start fiind brucina. Metoda este indicată pentru cantităţi mici ale celor doi alcaloizi.

Dozarea

Formarea tetrahidrostricninei

Principiu: stricnina se reduce la tetrahidrostricnină cu hidrogen în stare născândă, apoi se oxidează cu azotit de sodiu, cu obţinerea unei coloraţii roz-roşii, colorimetrabile. Sensibilitatea metodei este de 1 μg stricnină/ml soluţie.

Reactivi: 1. HCl 20%; 2. Amalgam de zinc (se încălzesc părţi egale de zinc şi de mercur într-o capsulă de nichel sau de porţelan, până la obţinerea unei mase fluide omogene; după răcire, se sparge masa în granule); 3. $NaNO_2$ 0,1%; 4. Soluţie stoc etalon; se cântăresc 0,2567 g sulfat de stricnină (M = 856,93 g/mol) şi se aduc cu apă la 100 ml (1 ml = 1 mg stricnină bază). În momentul întrebuinţării se diluează 1/100 soluţie etalon stoc (1 ml = 10 μg stricnină bază).

Modul de lucru: reziduul de la evaporarea cloroformului alcalin este reluat cu HCl 20%, adăugându-se la un volum de 25 ml. Din acest lichid se iau 2,5 ml, se completează cu 5 ml de apă, se tratează cu 3 ml HCl concentrat şi se fierb 10 minute, după adăugarea a 2 g de amalgam de zinc. Se transvazează cantitativ, evitând resturile de amalgam. Se tratează cu 0,1 ml azotit de sodiu 0,1% şi se aduce la 10 ml cu H_2O. Se citeşte extincţia în cuve de 1 cm la $\lambda = 525$ nm faţă de o probă oarbă. În condiţii identice, se execută o scară etalon cu cantităţi între 2 şi 20 μg stricnină/ probă.

Coloraţii asemănătoare dau cantităţi mari de cafeină, însă aceasta, fiind extrasă în mediu acid, nu interferează în extragerea în mediu alcalin.

Fenotiazinele interferează, dând o culoare roz chiar în momentul adăugării HCl concentrat; culoarea scade în intensitate în timpul reducerii şi apare la adăugarea nitritului, însă este fugace.

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Curara şi curarizantele

Izolare

Curarizantele se izolează cu cloroform din urina alcalinizată şi cu dicloretilen din plasma tamponată cu iodură de potasiu-glicocol.

Identificare

Reacţii de culoare. a) Reacţia Prudhomme: cu albastru de bromtimol, curarizantele dau complecşi coloraţi, ce pot fi extraşi cu cloroform când se obţine o soluţie colorată în galben. Prin alcalinizare se descompun, cu dezvoltarea unei coloraţii albastre colorimetrabile.

b) Reacţia cu dipiridilamina: cu această substanţă, curarizanteleformează unprecipitat. Acesta poate fi dizolvat în acetone, iar soluţia roşie obţinută poate fi colorimetrată.

c) Reacţia de formare a albastrului de molibden: prin hidroxilii fenolici, tubocurarina dă o coloraţie albastră cu reactivul *Folin-Ciocalteu* (se reduce acidul fosfomolibdenic la molibdanat de molibdenil).

d) Alte reacţii de culoare: *reactiv Millon* - roşu deschis; cu *vandanat de amoniu* - brun; cu*molibdat de amoniu* - albastru intens, trece în verde, apoi în galben (tubocurarina), în aceleaşi condiţii, dimetiltubocurarina dezvoltă culoarea albastră, apoi verde; *reacţia Vitali:* purpuriu-brun, apoi portocaliu brun.

Spectrofotometrie în UV şi IR

e) *UV (maxime)*

tubocurarina clorhidrat: 280 nm (H_2O), 275 nm, 281 nm (etanol);

galamina: 226 nm (H_2SO_4 0,1 N);

decametoniu (iodura): 227 nm (H_2SO_4 0,1 N);

f) IR (în KBr)

tubocurarina clorhidrat: A(1516); B(1228); C(1120);

succinilcolina (clorură): A(1724); B(1148); C(1308).

Colchicina

Izolare. Colchicina se izolează prin metode Stas-Otto-Ogier, atât în mediu acid, cât şi în mediu alcalin.

Identificare. Reacţii de precipitare: Dintre reactivii generali ai alcaloizilor sunt mai sensibili reactivul Bouchardat şi reactivul Dragendorff.

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Reacţii de culoare

a) Dintre reactivii speciali ai alcaloizilor, colchicina dă colorații cu:
   - *HNO_3 concentrat* (colorație violetă care trece în roşu-potocaliu prin alcalinizare);
   - *H_2SO_4 concentrat*: colorație galbenă; dacă se adaugă un cristal de KNO_3 se formează o colorație albastră, apoi verde, violet, roşie şi galbenă. Uneori violetul apare concomitent cu verdele (centru verde). Dacă se alcalinizează cu KOH 10% apare o colorație roşie.
   - *reactivul Lafon*: albastru-verde, verde, apoi brun;
   - *reactivul Fröhdee*: galben
   - *reactivul Mandelin*: galben-deschis;

b) *Reacţia Pesez*: prin tratarea soluției apoase de colchicină cu izoniazidă 10% şi carbonat de sodiu 10%, apoi încălzire pe baie de apă timp de 10 minute, se obține o colorație galben portocalie, fotometrabilă la 460 nm

c) *Reacţia Vitali*: verde;

d) *Reacţia cu apă de clor*: precipitat solubil în amoniac cu apariția culorii roşii.

Toxicologia analitică a unor medicamente

Aspirina

Toxicologie analitică

Izolare: Derivații de acid salicilic se izolează din medii acide cu solvenți organici. Salicilatul de metil poate fi antrenat cu vapori de apă.

Identificare:

- Reacția de culoare cu clorura ferică

1. *Urină*: se adaugă la 1 ml urină (eventual diluată 1/5) 5 ml reactiv Trinder, când apare, în câteva secunde, o colorație violetă. Reacția este foarte sensibilă. În condițiile metodei, numai cantități mari de fenotiazine interferează prin apariția unor colorații slabe. Reacția se poate executa şi prin spotare pe o hârtie de filtru umectată cu reactiv Trinder.

Reactivul Trinder: se adaugă 20 g clorură mercurică într-un pahar cu 425 ml apă şi se încălzeşte până la solvire. După răcire se adaugă 20 g nitrat feric $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ şi 60 ml HCl 1N. Clorura mercurică are rolul de a precipita

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

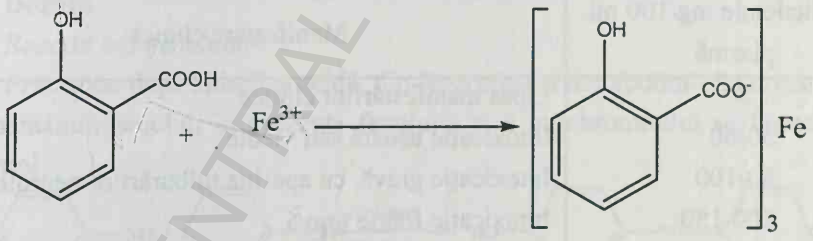
proteinele, care se separă prin centrifugare şi filtrare, încât reactivul poate fi folosit şi pentru sânge.

2. *Sânge, lichid cefalorahidian*: se iau într-un tub de centrifugă 1 ml ser (plasmă, sânge total, lichid cefalorahidian) şi 5 ml reactiv Trinder; se agită un minut şi se centrifughează, când în supernatant apare o coloraţie violetă.

3. *Lichid gastric*: mai întâi este necesar, pentru acidul acetilsalicilic, să se hidrolizeze lichidul în mediu alcalin la cald, deoarece altfel reacţia este negativă sau numai slab pozitivă. Se iau într-un pahar conic 10 ml lichid gastric, 10 ml apă şi 1 ml NaOH 40%, se adaugă o bilă de sticlă şi se fierbe pe sită, timp de trei minute. Se răceşte şi se ia 1 ml hidrolizat, se adaugă 4 ml apă şi se ajustează la pH 5 cu HCl 10%. La 1 ml lichid ajustat la pH 5 se adaugă 5 ml reactiv Trinder: o coloraţie violetă indică prezenţa acidului acetilsalicilic, atunci când reacţia efectuată pe lichid gastric nehidrolizat a fost negativă sau slab pozitivă.

Dozare: Metoda colorimetrică cu clorură ferică.

Principiu: ionul salicilat dă cu ionul feric un complex de culoare violetă, care prezintă un maximum de absorbţie la $\lambda = 535$ nm;



Reactivi:

1) Reactiv Trinder;

2) Soluţie etalon stoc: se cântăresc 0,232 g salicilat de sodiu şi se aduc la 100 ml cu apă distilată (1 ml = 2 mg acid salicilic);

3) Soluţie etalon diluată: în momentul întrebuinţării se diluează soluţia etalon stoc 1/5 (1 ml conţine 400 µg acid salicilic).

Modul de lucru: se ia 1 ml urină (eventual diluată) sau 1 ml ser (plasma, l.c.r.), se adaugă 5 ml reactiv Trinder şi se agită puternic. Se centrifughează şi se extrage supernatantul. Se citeşte imediat extincţia într-o cuvă cu drum optic de 1 cm şi la lungimea de undă $\lambda = 535$ nm, faţă de o probă oarbă. În condiţii

identice se realizează o scară etalon cu cantităţi intre 100 şi 400 μg/probă. Se face corecţia pentru diluţia efectuată, eventual, la urină (se diluează astfel încât concentraţia finală să fie cuprinsă intre 100 şi 400 mg/l).

Interpretarea rezultatelor: 1) Dozarea salicilemiei este importantă pentru stabilirea diagnosticului şi evaluarea gradului deintoxicaţie. Saliciluria are o valoare limitată, deoarece chiar ingerarea a 1-2 comprimate de aspirină determină o reacţie pozitivă cu $FeCl_3$, totuşi, după stabilirea diagnosticului, dozările în dinamică în urină permit urmărirea eliminării toxicului. 2) Ingerarea a 3-5 g acid acetilsalicilic determină, în general la adult, salicilemii de 25 mg/100 ml plasmă după 24 ore. Ingerarea a 20 g acid acetilsalicilic determină o salicilemie de 100 mg/100 ml. Saliciluria variază în raport cu diureza şi tratamentul, dar se înscrie de regulă, în cazul intoxicaţiilor acute, între 1000 şi 4000 ml/l urină.

Există o corelaţie între salicilemie şi gravitatea intoxicaţiei (Tabelul 8).

Tabelul 8. Corelaţia între salicilemie şi gravitatea intoxicaţiei (după Meunier, 1972)

Salicilemie mg/100 ml plasmă	Manifestare clinică
< 50	Lipsa manifestărilor clinice
50-80	Intoxicaţie uşoară sau medie
80-100	Intoxicaţie gravă, cu apariţia tulburărilor neurologice
100-150	Intoxicaţie foarte gravă
> 150	Intoxicaţie de obicei, fatală

Fenacetina, toxicologie analitică

Izolare. Fenacetina se izolează din mediu uşor acid sau alcalin iar paracetamolul din mediu acid, cu solvenţi organici.

Se acidulează 20 ml urină (2 ml ser) la pH = 5-6 cu acid acetic 5% şi se extrage de două ori cu câte 50 ml eter (cloroform). Extractele organice reunite sunt repartizate în trei capsule şi evaporate la sec pe baie de apă. Reziduul dintr-o capsulă este tratat cu 2 ml HCl 20% şi hidrolizat pe baie de apă la fierbere, apoi se adaugă 10 ml apă şi se filtrează.

Identificare

1. Reacţia de culoare

a) *Reacţia cu H_2SO_4 şi acetaldehidă*: reziduul din capsulă este tratat cu 1ml H_2SO_4 şi 4-5 picături de acetaldehidă când apare o culoare roşie.

b) *Reacţia indofenolului*: la 2 ml filtrat se adaugă o picătură de fenol 1% şi 2-3 picături soluţie de hipobromit, când apare o coloraţie roşu închis, care în mediul alcalin trece în albastru.

c) *Reacţia de diazotare şi cuplare*: la 2 ml filtrat se adaugă 0,5 ml HCl 10%, 0,1 ml $NaNO_3$ 1%, se agită şi se lasă în repaus 10 minute, se adaugă 0,2 ml NED 0,1%, când apare o coloraţie violetă.

d) *Reacţia cu $FeCl_3$*: 10 ml urină se tratează cu 1ml $FeCl_3$ 1%, când se obţine o coloraţieroşiecare virează în brun.

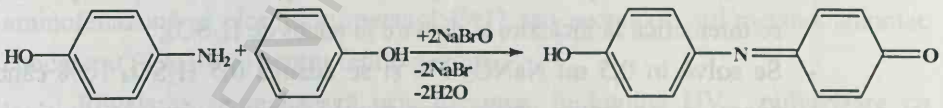
2. Cromatografia în strat subţire

Se dizolvă reziduul în 0,2-0,5 ml cloroform. Sistemul de migrare este etanol: cloroform (9:1). Revelarea serealizează prin pulverizare cu reactiv Dragendorff.

Dozare

Reacţia indofenolului

Principiu: după hidroliza acidă, din fenacetină şi metabolitul său urinar N-acetilparaaminofenolul, în prezenţa fenolului şi a hipobromitului se formează indofenol:



Reactivi: 1) HCl 4N; 2) NaOH 0,2N; 3) Fenol 1% în H_2O (proaspăt preparat); 4) NaBrO (3 ml apă de brom saturată cu 20 ml soluţie Na_2CO_3 11%); 5) Soluţie etalon: se cântăresc 100,0 mg fenacetină şi se aduc cu apă la 200 ml.

Modul de lucru: într-o eprubetă gradată se iau 1 ml apă distilată şi 4 ml HCl 4N. Se fierb pe baie de apă la 100 °C, timp de 45 minute. Se răceşte şi se aduce la 10 ml cu apă distilată. Din această soluţie (hidrolizat de urină) se ia 1 ml, se adaugă 8 ml NaOH 0,2 N, 1 ml fenol 1% şi 1 ml soluţie de hipobromit. Se lasă la întuneric 30 minute, după care se citeşte extincţia în cuva de 1 cm la λ =

BCU CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

630 nm faţă de o probă oarbă. În condiţii identice, se execută o curbă de etalonare cu concentraţii cuprinse între 100 şi 500 μg/probă.

Fenazona şi aminofenazona

Izolare. Fenazona şi aminofenazona se izolează din mediu neutru, uşor alcalin sau uşor acid, iar fenilbutazona din mediu acid, cu solvenţi organici.

Izolare din urină sau sânge: se alcalinizează 50 ml urină (5 ml plasmă) la pH 8 cu bicarbonat de sodiu şi se extrag de două ori cu cîte 50 ml cloroform. Extractele cloroformice reunite sunt filtrate pe Na_2SO_4 anhidru, eventual pe cărbune activat şi se evaporă la sec pe baie de apă. În reziduu se identifică fenazona sau aminofenazona. Pentru fenilbutazonă se procedează asemănător, dar extracţia din mediu se realizează la pH uşor acid.

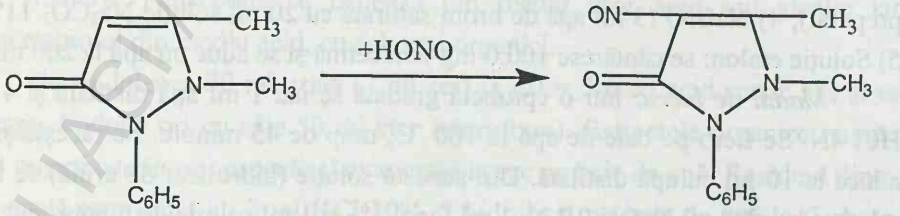
Izolare din organe: se triturează 10 g organe, 1 g nisip purificat, se adaugă 10 ml apă distilată şi 10 ml acid tungstic 10%.Se încălzeşte 15 minute pe baie de apă pentru precipitarea proteinelor. Se filtrează pe pâlnie Buchner, se alcalinizează filtratul la pH 8 cu amoniac concentrat şi se extrage de două-trei ori cu cîte 50 ml cloroform. Extractele reunite sunt evaporate pe baie de apă la sec.

Identificare

1. Reacţia de culoare

a) Fenazona:

- Se tratează cu 0,5 ml de $FeCl_3$ 1%, când apare o coloraţie roşie care se intensifică la încălzire şi dispare la adaos de H_2SO_4;
- Se solvă în 0,5 ml $NaNO_2$ 5% şi se adaugă 0,5 H_2SO_4 10% când apare o coloraţie verde persistentă (reacţia nitrozoantipirinei- interferează HNO_3).



- Se tratează cu 1-2 picături HCl 10% şi 1-2 picături formaldehidă 40%, se încălzeşte la fierbere şi, după răcire, se alcalinizează cu amoniac diluat, când apare un precipitat alb;
- Se tratează cu câteva picături de reactiv Mandelin, când apare o coloraţie verde;

b) Aminofenazonă:

- Se tratează reziduul cu 1-2 picături de $FeCl_3$ 1%, când apare o coloraţie violetă trecătoare, care se decolorează în exces de reactiv;
- Se dizolvă reziduul în 0,5 ml $NaNO_2$ 5% şi se adaugă 0,2 ml H_2SO_4 10%, când apare o coloraţie albastră-violacee, trecătoare;
- Se tratează reziduul cu 1 ml persulfat de potasiu 1%, când apare o coloraţie albastră, care trece succesiv în roşu-violet şi galben;

c) Fenilbutazonă: reziduul se prelucrează astfel:

- Se tratează cu câteva picături de reactiv Mandelin, când apare o coloraţie roşie;
- Se dizolvă în 1 ml apă şi se adaugă 1 ml reactiv Folin-Ciocîlteu; după alcalinizare apare o coloraţie albastră;
- Se hidrolizează (fierbere cu acid fosforic), iar benzidina formată este identificată prin diazotare şi cuplare cu NED sau β-naftol.

Cromatografia în strat subţire. Se dizolvă reziduul în 0,2-0,5 ml de cloroform şi se spotează pe cromatoplacă în raport cu un martor. Sistemele de migrare sunt: etanol/cloroform (1/9) sau acetonă/cloroform (1/9) pentru aminofenazonă şi cloroform/metanol (9/1) sau acetat de etil/metanol/amoniac concentrat (8,5/1/0,5) pentru fenilbutazonă.

Revelarea se realizează prin expunere în lumină UV, pulverizare cu reactiv Dragendorff sau reactiv Bourchardat (pentru aminofenazonă) şi permanganat 1% (spoturi galbene pe fond roz) sau fericianura de potasiu 1% şi $FeCl_3$ 0,1% (volume egale) (spoturi albastre) pentru fenilbutazonă.

Fenitoina

Izolare. Fenitoina, trimetadiona parametadiona sunt izolate din soluţii apoase acide cu solvenţi organici, şi carbamazepina din soluţii alcaline, iar celelalte anticonvulsivante din soluţii apoase alacaline şi acide. Primidona este mai întâi oxidată la fenobarbital şi extrasă sub această formă.

BCU MSU CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Identificare prin reacţii de culoare

a) *Reacţii cu săruri de cobalt*: se dizolvă reziduul în metanol, se tratează cu 1 ml azotat de cobalt 1% în metanol şi cu o picătură de NaOH 10% când apare o coloraţie albastră-violetă, în prezenţa hoidantoinelor şi a primidonei. Alcalinizarea cu dietilamină 1% în metanol pune în evidenţă barbituricele;

b) *Reacţia cu azotat mercuros*: se spotează o picătură de soluţie etanolică de fenitoină sau de soluţie apoasă de metoina pe o hârtie de filtru impregnată cu fosfat trisodic 10% şi se pulverizează cu azotat mercuros, soluţie saturată. În prezenţa hidantoinelor apare o coloraţie neagră;

c) *Reacţia Liebermann*: o coloraţie portocalie indică prezenţa metoinei şi fenacemidei. Reactivul Liebermann: se dizolvă 10 g azotit de potasiu în apă şi se aduce la 100 ml cu acid sulfuric concentrat;

d) *Reacţia de diazotare şi cuplare*: peste reziduu se adaugă 1-2 ml amestec de nitrare şi după 15 minute se reduce gruparea $-NO_2$ la $-NH_2$, care se diazotează şi se cuplează cu NED sau α-naftol; fenitoina conduce la un azoderivat de culoare violetă.

Cromatografie:

a) Se dizolvă reziduul în 0,2-0,5 ml metanol şi se eluează cu izopropanol:cloroform:amoniac concentrat (4,5: 4,5: 1). Pentru revelare se imersează hârtia în soluţie saturată de clorură mercurică în metanol cu adaos de eozină; în prezenţa primidonei şi a fenobarbitalului apar spoturi galbene pe fond roz, diferenţiate prin valori R_f.

b) Se dizolvă reziduul în 0,2-0,5 ml metanol şi se spotează pe cromatoplacă în paralel cu martorii. Sistemul de migrare este cloroform:acetonă (9:1). Revelarea se realizează prin pulverizare cu azotat mercuros soluţie saturată, când apar spoturi negre.

Spectrofotometrie în UV şi IR. Determinarea fenitoinei din sânge se realizează astfel: se alcalinizează 5 ml sânge la pH 8-9 cu NH_4OH, apoi se extrage cu un amestec de 20 ml ciclohexan şi 1 ml de n-butanol. După centrifugare, stratul apos este îndepărtat, iar stratul organic se spală cu 10 ml HCl 1N. Fenobarbitalul rămâne în stratul apos. Stratul organic spălat este extras cu 4 ml tampon de bicarbonat cu pH 11. Extractul în bicarbonat este determinat spectrofotometric în UV de la 220 la 270 nm şi comparat cu o curbă de etalonare

BCU "IOSIF GENȚIANA" UNIVERSITY LIBRARY

obţinută cu substanţa pură, tratată în mod similar. Metoda poate servi şi pentru determinări cantitative (Tabelul 9).

Tabelul 9. Valorile absorbţiilor maxime în UV şi IR ale unor anticonvulsivante

Derivatul	UV (maxime)				IR (în KBr)		
	Etanol apa (1:1)	Etanol	Metanol	H_2SO_4 0,1 N	A	B	C
Fenitoina			258		1713	1768	748
Etotoina		259					
		265			1716	1455	700
Trimetadoina							
Parametadoina	228						
	180						
Fensuximida	251						
	257						
	267						
Mesuximida				256	1705	1435	1282
Etosuximida		248					
Primidona		251					
		258					
		264					
Fenacemida			257		1660	1090	716
							1410
							1618
Carbamazepina		215		283	1678	1388	1594
		285					

Dozarea fenitoinei

Principiu: fenitoina se oxidează cu $KMnO_4$ rezultând, după ruperea ciclului, benzofenona extractibilă în heptan şi având maximum de absorbţie în UV la 254 nm.

BCU CLUJ / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Reactivi: 1) tampon fosfat cu pH 6,8 (se dizolvă 13,6 g KH_2PO_4 anhidru şi 14,2 g Na_2HPO_4 anhidru în 200 ml H_2O); 2) NaOH N; 3) NaOH 9N; 4) $KMnO_4$ 5%; 5) N-heptan; 6) Soluţie etalon stoc: 0,0800 g fenitoină se aduc cu apă distilată la 100 ml. În momentul determinării se diluează 1/100 soluţia stoc (1 ml = 8 μg fenitoină).

Mod de lucru: Se iau într-o pâlnie de separare 5 ml produs (sânge, urină, lichid gastric), 5 ml tampon fosfat, 30 ml cloroform şi se agită 5 minute. Se trece faza organică în altă pâlnie de separare, se adaugă 6 ml NaOH N şi se agită 5 minute. Se separă faza apoasă alcalină şi se centrifughează pentru îndepărtarea urmelor de cloroform. Din această soluţie se trec 4 ml într-un balon Erlenmeyer şi se încălzesc la 60 °C, timp de 15 minute, evitând evaporarea. Se adaugă 16 ml NaOH 9N, 6 ml $KMnO_4$ 5%, 5 ml n-heptan şi se continuă încălzirea încă 30 minute agitând periodic. Se lasă să se răcească, se separă faza heptanică şi se citeşte extincţia E_p în UV la 247 nm faţă de o probă oarbă. În condiţii identice se foloseşte un etalon de concentraţie 4 μg/ 5 ml apă cqnd se citeşte extincţia E_p.Se calculează concentraţia fenitoinei:

$$\text{mg fenitoină/100 ml produs} = E_p/E_e \times 0{,}08$$

Interpretarea rezultatelor: În intoxicaţii, concentraţiile sanguine de fenitoină depăşesc 4 mg/100ml.

Derivaţi carbamici

Izolare

Derivaţii carbamici sunt izolaţi din mediu acid, neutru sau alcalin cu eter, diclormetan, cloroform, extracţia maximă realizându-se în mediu acid.Derivaţii conjugaţi se extrag după o prealabilă hidroliză acidă.

Identificare prin reacţii de culoare

a) *Reacţia Nadeaau-Sobolewki*: se tratează reziduul cu câteva cristale de hidrochinonă, 0,3 ml apă distilată şi 3 ml H_2SO_4 concentrat când, în prezenţa carbamaţilor, apare după 5 minute, o fluorescenţă roz-portocalie (prin expunere în lumină UV la 366 nm);

b) *Reacţia cu furfurol*: se reia reziduul cu 1,5 ml acetonă, la care se adaugă imediat 0,1 ml H_2SO_4 concentrat. Se agită şi se adaugă 0,1ml soluţie de furfurol 1% în acetonă, preparată extemporaneu, se agită pentru a distribui

amestecul pe pereţii capsulei. Se lasă în repaus câteva minute, după care, în prezenţa carbamaţilor, apare pe pereţii capsulei şi deasupra fazei lichide, un inel intens colorat în violet;

c) *Reacţia cu* Co^{2+}: se reia reziduul cu 2 ml etanol şi se trece într-o eprubetă; se neutralizează cu 0,2 ml acid acetic glacial şi se tratează cu 2,5 ml $CoCl_2$ 0,1% în alcool absolut, când apare o coloraţie violacee. Reacţia este specifică derivaţilor carbamici;

d) *Reacţia Bourdon-Nicaise:* la reziduu, se adaugă succesiv următorii reactivi răciţi la 4 °C: 1) 0,6 ml amestec de 3 volume anisol şi 1 volum acid acetic glacial; 2) 0,5 ml acetonă anhidră; 3) 0,3 ml soluţie de paradimetil-aminobenzaldehidă, preparată din 14 g PABA şi anisol la 100 ml; 4) 2 ml soluţie de clorură de amoniu preparată din 0,15 ml metilcelosolv, 50 ml anisol, 2,25 g NH_4Cl. În prezenţa carbamaţilor se observă o coloraţie roşie sau roşie-violacee. Sensibilitatea reacţiei este de 3 µg/ml.

Măsurători de fluorescenţă. Se încălzeşte reziduul pe baie de apă cu H_2SO_4 concentrat timp de 10 minute când, în lumină UV se observă o fluorescenţă alb-verzui.

Cromatografie. Se dizolvă reziduul în 0,2-0,5 ml metanol şi se spotează pe cromatoplacă, în paralel cu martorii. Sisteme de migrare: ciclohexan:etanol (8:2); cloroform:metanol (9:1); metanol:amoniac 12N(100: 1.5); n-butanol:amoniac (9:1). Revelare: a) uscare timp de 15 min la 70 °C şi pulverizare cu furfurol 1% în acetonă, apoi cu o soluţie de H_2SO_4 4% în acetonă, când apar spoturi violete; interferă fenotiazinele; b) pulverizare cu hidrochinonă 2% în H_2SO_4 concentrat şi uscare 20-30 minute la 70 °C, apoi expunere în lumină UV, când apar spoturi fluorescente roz.

Spectrofotometrie

a) UV (maxime):

Hidroxizina: 232, 257, 263, 269 nm (H_2SO_4 0,1N);

Benactizina: 252, 258, 265 nm (etanol); 252, 258, 264 nm (H_2SO_4 0,1N);

Clordiazepoxid bază: 245, 306 nm (H_2SO_4 0,1N);

Clordiazepoxid·HCl: 246, 308 nm (HCl 0,1N);

Diazepam: 241, 284, 359 nm (H_2SO_4 0,1N); 242, 287 nm(HCl 2N);

Oxazepam: 230, 315 nm (etanol);

Lorazepam: 236, 329 nm (HCl 0,1N);

BCU CLUJ-NAPOCA UNIVERSITY LIBRARY

Prazepam: 240, 285 nm (H_2SO_4 0,1N);
Flurazepam: 239, 284 nm (metanol);
Nitrazepam: 218, 250 nm (etanol); 277 nm (H_2SO_4 0,1N).
b) IR (în KBr)
Hidroxizina: A (1082,1130), B (1005);
Benactizina: A (795,1723), B (1231), C (1054);
Meprobamat: A (1688), B (1069), C (1408);
Tibamat: A (1695), B (1342), C (1065,1250);
Clordiazepoxid bază: A (1625), B (1458), C (760);
Diazepam: A (1581), B (1484), C (1313);
Nitrazepam: A (1352,1672), B (1615).

Dozare

Principiul metodei: meprobamatul se transformă în cianat sub acţiunea KOH în etanol,iar acesta reacţionează cu ionul Co^{2+} în alcool,în prezenţa unui acid cu formare de tetracianatocobaltat dipotasic, violet, colorimetrabil:

$$R\text{-}COO\text{-}NH_2 + KOH \rightarrow R\text{-}OH + KNCO + H_2O$$
$$4KNCO + CoCl_2 \rightarrow K_2[Co(NCO)_4] + 2KCl$$

Reactivi: 1) Etanol 2) KOH 10% în etanol;3)Acid acetic glacial;4) $CoCl_2$ 0,1 % în etanol absolut; 5) Soluţie etalon: se dizolvă 0,25 g meprobamat în 50 ml etanol (1 ml = 5 mg); soluţia etalon se diluează 1/100 în momentul întrebuinţării (1 ml=0,05 mg).

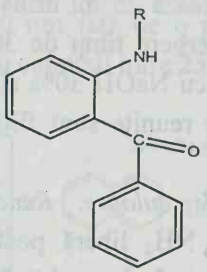
Mod de lucru: se dizolvă reziduul în 10 ml etanol, se adaugă 5 ml KOH şi se fierbe cu refrigerent ascendent pe baie de apă, timp de o oră. Se răceşte şi se aduce cu etanol la 25 ml într-un balon cotat. Se iau 5 ml din această soluţie şi se adaugă 1 ml acid acetic glacial, se agită şi se adaugă 0,5 ml soluţie de $CoCl_2$. După 15 minute, se citeşte extincţia în cuvă de 2 cm la λ = 610 nm faţă de o probă oarbă. Se execută o scară etalon cu cantităţi între 20 şi 100 mg meprobamat degradat/5 ml.

Interpretarea rezultatelor: În tratamentul cu meprobamat se elimină, la doze de 0,8 g/24 ore, 0,5 mg/100 ml sânge şi 10 mg/litru de urină. În intoxicaţia acută, la peste 10 g meprobamat ingerat, se ajunge la 5-30 mg/100 ml sânge şi valori urinare de 300-1000 mg/litru şi chiar peste 1500 mg/litru urină.

BUCHAREST CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Benzodiazepinele

Benzodiazepinele nu pot fi identificate direct,ci printr-o reacţie de diazotare,urmată de cuplare,caracteristică aminelor primare aromatice. Prin hidroliză acidă la încălzire, benzodiazepinele cu R_1 = H şi metaboliţii lor formează derivaţi de 2-aminobenzofenonă,extractibili cu solvenţi organici.



Diazotarea şi cuplarea nu poate fi aplicată în toate cazurile, deoarece:

- benzodiazepinele cu R, alchil (diazepam, prazepam, flurazepam, medazepam, nimetrazepam, flunitrazepam) formează prin hidroliză, o amină aromatică secundară, nediazotabilă. În organism însă aceste benzodiazepine suferă parţial N_1-dezalchilare, astfel încât metaboliţii N_1-dezalchilaţi prezenţi în urină şi sânge pot fi identificaţi după hidroliză acidă, prin diazotare şi cuplare;
- medazepamul posedă două grupări metilenice între N_1 şi N_4; gruparea CH_2 din poziţia 2 măreşte stabilitatea legăturii N_1-C_2,care deci nu poate fi scindată prin hidroliză acidă astfel încât, nici metabolitul N-dimetilat nu se scindează cu formare de derivat 2-aminobenzofenonic;
- benzodiazepinele cu R_2=alchil nu pot fi identificate prin diazotare şi cuplare, deoarece se găsesc în stare nemetabolizată, deci nediazotabilă.

Izolare. Clordiazepamul şi alte benzodiazepine cu R_1 = H se extrag din 25 ml urină, de două ori cu câte 50 ml eter, dicloretan sau amestec dicloretan: acetat de etil (2:1), după alcalinizare la pH 10 cu carbonat de sodiu. Se filtrează extractele organice reunite pe un filtru uscat şi se spală filtrul cu puţin solvent. Filtratul este evaporat la sec pe baie de apă.

Diazepam şi alte benzodiazepine se extrag din 25 ml urină, tamponată la pH 6,8-7 cu tampon fosfat, prin agitare cu 50 ml cloroform. Extracţia se repetă,

iar extractele cloroformice sunt reunite şi filtrate pe un filtru, peste puţin cărbune activat şi se spală filtrul cu puţin cloroform. Filtratul este evaporat la sec pe baia de apă la 50-60 °C. Se procedează similar şi pentru 2 ml plasmă, 0,1 ml tampon fosfat şi 25 ml cloroform. Tamponul fosfat se obţine din 30 ml NaOH 0,1N, 50 ml fosfat dipotasic 0,1N şi apă până la 100 ml.

Izolarea 2-aminobenzofenonei se realizează astfel: într-un balon prevăzut cu refrigerent ascendent se hidrolizează 25 ml urină cu 10 ml HCl concentrat, încălzindu-se pe baie de apă la fierbere timp de 30 minute. Se răceşte şi se filtrează. Se neutralizează lichidul cu NaOH 30% şi se extrage de două ori cu câte 50 ml eter. Extractele eterice reunite sunt filtrate pe Na_2SO_4 anhidru şi evaporate la sec pe baie de apă.

Identificare prin reacţii de culoare. Reacţia Bratton-Marshall: 2-aminobenzofenona, prin gruparea NH_2 liberă poate fi diazotată şi cuplată, conducând la un azoderivat colorat, colorimetrabil. Reziduul obţinut la izolarea 2-aminobenzofenonei este reluat cu 1 ml HCl 10% şi se diazotează prin tratare cu 0,1 ml $NaNO_2$ 1%. După 10 minute se elimină excesul de nitrit cu 2 ml uree 10% sau sulfamat 2%. Se agită şi se lasă în repaus 2 minute, apoi se adugă 0,1 ml N-naftietilendiamina (NED) 0,1 % când se obţine o coloraţie roz-violacee.

Reacţia Pelzer: se procedează similar, se cuplează cu alfa-naftol şi colorimetrare la $\lambda = 492$ nm.

Reacţia Trefouel: cuplare cu N-alfa-naftil, N',N'-dietilpropilen-diamina 0,1%, când se obţine o coloraţie violetă, fotometrabilă la $\lambda = 540$ nm.

Cromatografie în strat subţire. Se dizolvă reziduul de extracţie directă (fără hidroliză acidă) în 0,2 ml cloroform şi se spotează pe cromatoplacă în paralel cu martori. Sisteme de migrare: cloroform:metanol:toluen (10:1:4) şi metanol:acetonă:trietanolamina (1:1:0,3). Revelare: stropire cu reactiv Dragendorff modificat cu apariţia unor spoturi brun-roşcate pentru diazepine şi metaboliţii lor. Reactiv Dragendorff modificat: 20 ml soluţie de azotat bazic de bismut 1,7% în acid acetic 20%, 5 ml soluţie KI 40% şi 70 ml apă.

Determinare cantitativă

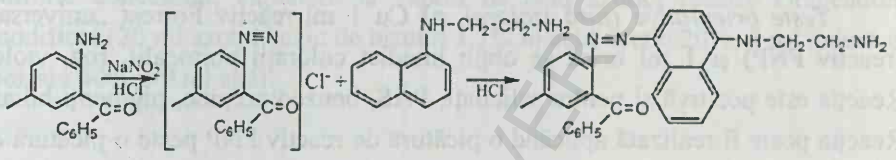
Metoda colorimetrică Bratton-Marshall

Principiu: derivatul 2-aminobenzofenonic obţinut prin hidroliză acidă la cald este diazotat şi cuplat cu N-naftiletilendiamina (NED) cu formarea unui azoderivat roz-violaceu, colorimetrabil. Sensibilitatea metodei este de 1 µg/ml.

BCU CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Reactivi: se procedează similar cu „identificarea", soluţia etalon diluată conţine 0,25 mg benzodiazepina/ml.

Modul de lucru: se dizolvă reziduul obţinut prin extracţie cu solvenţi, după hidroliză acidă, în 2 ml HCl 2N şi se aduc cantitativ cu apă distilată într-un balon cotat de 25 ml. Se iau 2 ml din această soluţie, se adaugă 0,5 ml HCl 2N şi 0,1 ml $NaNO_2$ 1%, se agită şi se lasă în repaus 10 minute. Se adaugă 1 ml uree 10%, se agită şi, după 5 minute, se adaugă NED 0,1%. Se citeşte extincţia în cuva de 1 cm la λ = 550 nm faţă de o probă oarbă. În condiţii identice se realizează o scară etalon cu cantităţi între 250 şi 500 µg/probă.



Fenotiazinele

Izolare. Fenotiazinele se izolează din mediu alcalin şi parţial din mediu acid cu diclormetan, dicloretan, cloroform, eter şi hexan.

Izolare din urină şi lichid gastric. Se introduc într-o pâlnie de separare 50 ml urină sau lichid gastric filtrate şi se alcalinizează cu NaOH 20% până la pH 10. Se adaugă 80 ml diclormetan (dicloretan sau cloroform) şi se agită energic 3 minute. Se repetă extracţia cu 80 ml solvent organic. Fazele organice se spală de două ori cu câte 20 ml H_2O, după care se filtrează pe Na_2SO_4 anhidru şi se evaporă la sec sau se folosesc ca atare.

Izolare din sânge.

a) Se tratează 10 ml sânge total cu 10 ml acid tricloracetic 20% se filtrează, se alcalinizează la pH 10 cu NaOH 20% şi se extrag de două ori cu câte 50 ml solvent organic. Extractele organice reunite sunt filtrate pe filtru uscat şi evaporate la sec pe baie de apă.

b) Se tratează 5 ml ser cu 15 ml apă distilată, 1 ml NaOH 4% şi 25ml diclormetan. Se agită energic 10 minute. Se centrifughează şi se îndepărtează, prin aspirare, faza apoasă supernatantă. Se poate utiliza în continuare faza organică ca atare, fără a aduce la sec.

Izolare din sânge şi din organe. Se macerează 10 g ficat (sau 10 ml sânge) cu 10 ml (respectiv 2 ml) apă şi se adaugă 13,5 ml (respectiv 8 ml) HCl concentrat. Se încălzeşte amestecul pe baie de apă timp de 5 minute, apoi se răceşte cu grijă. Se adaugă 12 ml KOH 60% spălat în prealabil cu eter, se agită şi se verifică dacă pH-ul este alcalin. Se răceşte şi se extrage de două ori cu câte 50 ml eter. Extractele eterice reunite sunt agitate cu 10 ml NaOH 2,5%. Se îndepărtează faza apoasă, iar faza eterică se spală de două ori cu câte 10 ml apă. Extractele reunite sunt evaporate la sec.

Identificare

Teste orientative (fară izolare). a) Cu 1 ml reactiv Forrest „universal" (reactiv FNP) şi 1 ml urină se obţin imediat colorații portocalii, roz, violet. Reacţia este pozitivă şi pentru salicilaţi, PAS, benzodiazepine, pigmenţi biliari. Reacţia poate fi realizată aplicând o picătură de reactiv FNP peste o picătură de urină spotată pe o hârtie de filtru şi uscată. Reacţia este mai sensibilă când se extrag 10 ml urină alcalinizată cu NaOH, cu 20 ml eter, faza eterică evaporată, iar reziduul eteric reluat în 2-3 picături alcool spotat pe hârtie, peste care se suprapun 2-3 picături reactiv FNP.

Reactiv FNP: se amestecă 5 ml $FeCl_3$ 5%, 45 ml acid percloric 20% (v/v) şi 50 ml acid azotic 50% (v/v).

b) Dacă la 1 ml urină se adaugă 1 ml reactiv compus din 80 ml acid sulfuric 10% şi 20 ml $FeCl_3$, se obţine o coloraţie roz-mov.

c) Se aplică 1-2 picături de urină pe o hârtie de filtru, marcând cu creionul conturul petei. Se usucă şi se suprapune o picătură de HNO_3 concentrat când apar, pe conturul creionat, inele roz, violete, în raport cu fenotiazina şi concentraţia sa. La concentraţii foarte scăzute observarea hârtiei se face privind prin transparenţă.

d) Test pentru tioridazina: la 1 ml urină se adaugă 1 ml compus din 98 ml H_2SO_4 30 % şi 2 ml $FeCl_3$ 5 % când apare o coloraţie roz deschis care trece în albastru.

Reacţii pe reziduu sau pe soluţia extractivă. a) Reacţiile indicate la „testele orientative" pot fi executate şi pe reziduu sau pe soluţia extractivă.

b) Cu reactivii generali şi speciali ai alcaloizilor se obţin precipitate, respectiv coloraţii.

c) Reacţia Meunier constă amestecarea a 15 ml extract organic obţinut la extragerea a 50 ml urină cu 5 ml reactiv Meunier şi agitare energică timp de un minut. Apariţia unei coloraţii roşu- violete în faza inferioară indică prezenţa fenotiazinelor.

Cromatografia în strat subţire. Se dizolvă reziduul în 0,2-0,5 ml metanol şi se spotează pe cromatoplacă. Sistemele de migrare sunt: cloroform/metanol (9/1); ciclohexan/ benzen/dietilamina (7,5/1,5/1); acetona/apă/amoniac (9/3/0,1).

Relevarea: pulverizare cu reactiv FPN; acid sulfuric; acid percloric; reactiv Meunier şi expunere la vapori de HCl; molibdat de amoniu 1% în acid sulfuric concentrat; expunere la vapori de acid azotic, reactiv Dragendorff modificat (20 ml azotat bazic de bismut 1,7% în acid acetic 20%, 5 ml iodură de potasiu 40%, 70 ml apă).

Dozarea cu benzochinonă (tehnică Meunier)

Principiul: fenotiazinele, puternic donoare de electroni, reacţionează cu acceptori de electroni (oxidanţi) în mediu puternic acid.

Reactivi: 1. Reactiv Meunier (se amestecă extemporaneu 1 ml soluţie chinhidronă 0,001M sau benzoparachinonă 0,001M în diclormetan şi 4 ml acid ortofosforic,d = 1,71).

2. Soluţie etalon: se cântăresc 0,1 g compus fenotiazinic şi se aduc la 50 ml cu metanol. Se diluează 1/100 soluţia etalon (1 ml = 20 μg).

Modul de lucru. Reziduul de fenotiazină este reluat cu metanol şi adus cantitativ cu metanol într-un balon cotat de 25 ml. Se iau 2,5 ml din această soluţie şi se adaugă 0,2 ml reactiv Meunier. Se citeşte extincţia în cuva de 1 cm, la λ specifice fiecărei fenotiazine.

Tioxantenele

Izolare

Izolare din urină şi din sucul gastric. Se iau într-o pâlnie de separare 10 ml urină (lichid gastric), 2 ml NaOH 4 %,15 ml dicloretan şi se agită puternic timp de 3 minute. Se decantează şi se spală faza organică cu 10 ml apă. Se filtrează pe Na_2SO_4 anhidru.

BCU IAŞI CENTRALA UNIVERSITARĂ LIBRARY

Identificare prin reacţii de culoare. Tioxantenele dau reacţii de culoare cu reactivi uzuali.

Fluorescenţa a) Într-o eprubetă se introduce o porţiune de filtrat şi se adaugă 1 ml H_2SO_4 concentrat; se agită puternic 1 minut. Se analizează soluţia în domeniul UV la 366 nm, când se observă fluorescenţă roz-galbenă.

b) Într-o altă eprubetă, peste filtrat, se adugă 1 ml acid ortofosforic, se agită puternic 1 minut şi se examinează soluţia la 366 nm, când se observă aceeaşi fuorescenţă roz-galbenă.

Butirofenonele

Izolare

Izolare din urină. Într-o pâlnie de separare se iau 100 ml urină, 2 ml NaOH 10% şi 100 ml eter. Se agită 10 minute, se îndepărtează faza apoasă şi se filtrează faza eterică pe Na_2SO_4 anhidru. Filtratul se evaporă pe o baie de apă la uşoară încălzire.

Izolare din sânge. Într-o eprubetă cu dop se iau 5 ml ser (plasmă), 0,5 ml NaOH 4% şi 5 ml eter. Se agită 5 minute, se centrifughează la turaţii joase şi se evaporă faza eterică pe baie de apă uşor încălzită.

Identificare prin reacţii de culoare. Butirofenonele dau coloraţii cu reactivii uzuali de culoare.

Cromatografie în strat subţire. Se dizolvă reziduul în 0,5 ml cloroform şi se spotează pe cromatoplacă. Sistemul de migrare cloroform/metanol (9/1).

Revelare: pulverizarea cu iodoplatinat.

Spectrofotometrie în UV şi IR.

Bibliografie

Cotrău, M., Proca, M., *Toxicologie (Lucrări practice)*, Litografia IMF, Iaşi, 1983.

Grecu, I., Ciurea, E., *Identificarea substanţelor medicamentoase*, Editura Dacia, Cluj-Napoca, 1980.

Proca, M., Butnaru, E., *Lucrări practice de toxicologie*, I, Litografia UMF, Iaşi, 1995.

Stan, T., Popa, I., *Toxicologie generală (Lucrări practice)*, Litografia IMF, Bucureşti, 1978.

Stelljes, M.E., *Toxicology for Nontoxicologists*, The Scarecrow Press, Inc., Lanham, Maryland / Toronto / Plymouth, UK, 2008.

BCU "LUCIAN BLAGA" CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

10. Canabinoide

Conform Naţiunilor Unite, canabisul este drogul cu cea mai largă utilizare în lume. În anul 2004, ONU a estimat că aproximativ 4% din populaţia adultă a lumii (162 milioane de persoane) consumă canabis, iar aproximativ 0,6% (22,5 milioane) îl foloseau zilnic, fiind dependenţi. Dacă la aceste date adăugăm şi datele recente (din perioada 2008-2011) referitoare la canabinoidele de sinteză (sau aşa-zisele „Spice/Weed/ierburi"), numărul consumatorilor de canabinoide se dublează sau chiar triplează.

Canabisul (*marijuana*), se referă la orice tip de preparate din planta de canabis (cânepă) destinate utilizării ca drog psihoactiv. Practic canabisul/marijuana este un amestec din frunze, tulpini şi inflorescenţe fin mărunţite ale plantei mature de sex feminin canabis, care prezintă aspect de tutun verzui. Ca şi drog, canabisul prezintă diverse alte denumiri: *grass* sau *herb* („iarbă"), Buddha sau Bud, Mary Jane, Weed, Pot, Schwag.

Haşişul este răşina secretată de glandele situate la nivelul frunzelor de cânepă. Haşişul se comercializează sub formă de „bulgări" solizi sau „plăci" presate având diverse nuanţe de culoare: roşie, maron, verde sau negru (în funcţie de ţara de origine, puritate). Fumat sau mestecat este mai activ decât canabisul.

Planta canabis face parte din genul *Cannabis*, familia *Cannabaceae* şi include trei specii, *C. sativa*, *C. indica* şi *C. Ruderalis*. Aceste anuale plante sunt dioice. *C. Sativa* şi *C. indica* cresc, în general, iar plantele femele dau o producţie de flori bogate în THC (de la 1% la 29%). *C. ruderalis* este foarte scurt, produce doar urme de THC.

Planta de canabis conţine mai mult de 400 de compuşi chimici diferiţi, din care cel puţin 70 sunt canabinoide. Componenţa chimică psihoactivă majoră din canabis şi haşiş este Δ^9-tetrahidrocanabinol (abreviat ca THC), iar dintre

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

celelalte canabinoide le amintim pe cele mai importante: canabidiol (CDB), canabinol (CBN) şi tetrahidrocanabivarin (THCV), Fig. 1.

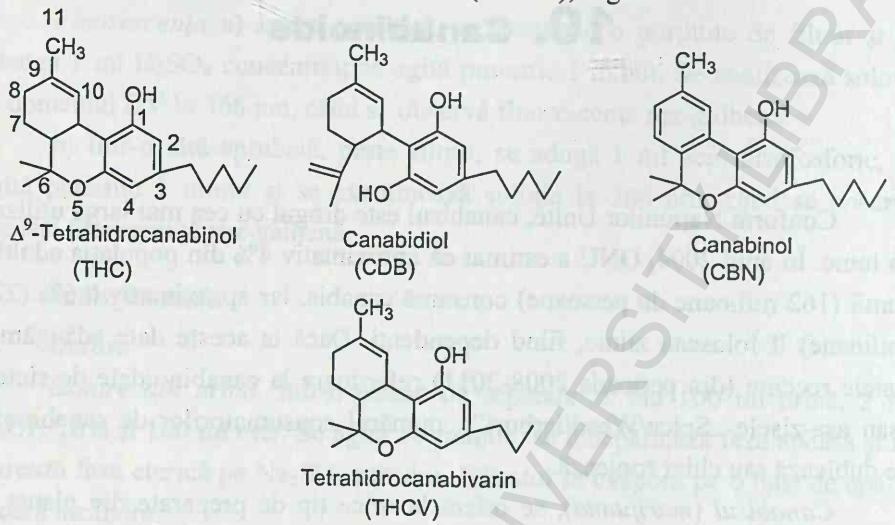
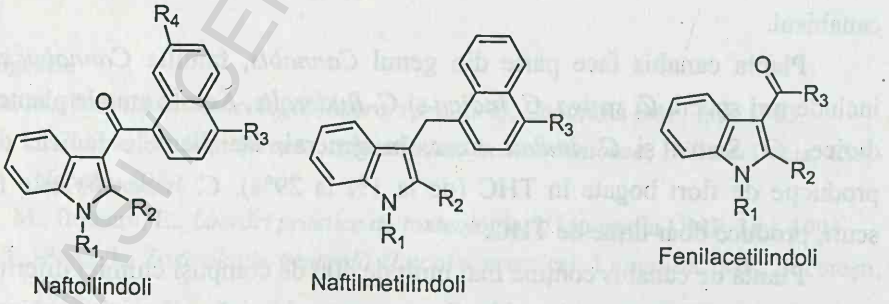


Figura 1. Structura principalelor canabinoide naturale

Canabinoidele de sinteză sau *„Spice/Weed/ierburi"* sunt droguri psihoactive de sinteză care se înglobează în amestecuri de plante, motiv pentru care se mai denumesc şi „Spice/Weed/ierburi". Componentele chimice psihoactive cele mai întâlnite aparţin la 6 clase de substanţe: naftoilindoli, naftilmetilindoli, fenilacetilindoli, naftoilpiroli, naftilmetilindene şi ciclohexilfenoli, Fig. 2.



BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Figura 2. Structura principalelor clase de canabinoide de sinteză, spice/ierburi

Componentele chimice psihoactive majore de tip canabinoid din Spice/ierburi sunt: ciclohexilfenolul CP-47,497-C8 (cis-3-[2-hidroxi-4-(1,1-dimetilheptil)fenil]-ciclohexan-1-ol) şi aminoalchilindoli de tip JWH (JWH-018, JWH-073 şi JWH-250), Fig. 3. Subliniem că în „Spice/ierburile" comercializate se găsesc şi alte substanţe psihoactive (diverşi alcaloizi, opioide de sinteză etc.), dar nu vor fi tratate aici.

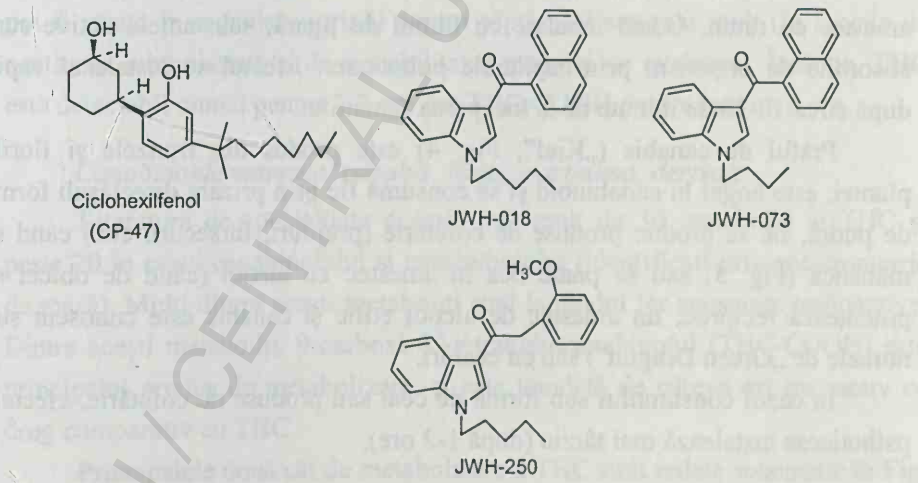


Figura 3. Structura principalelor canabinoide de sinteză, spice/ierburi

„Spice/ierburile" comercializate pe piaţă se găsesc sub diverse denumiri cum ar fi: 'Spice Diamond', 'Spice Gold', 'Spice Rubin', 'Spice Arctic Synergy', 'Spice Diamond', 'Spice Egypt', 'Spice Gold', 'Spice Gold Spirit', 'Spice Silver', 'Spice Tropical Synergy', '2Spicy', 'Algerian Blend', 'Bombay

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Blue', 'Botanic Fire', 'Bull Titan', 'Chill Out', 'Chill Out – Second Edition', 'CHILL OUT', 'Chill X', 'Chill X – Second Edition', 'Clover', 'Cultured Weed Ahia', 'Dream', 'Encense Gorilla', 'Escelle', 'Experience Cahoots', 'Experience Chill', 'Experience Ignite', 'Experience Vortex', 'Ex-ses Platinum', 'Flash', 'Forest Humus', 'Genie', 'Highdis Almdrohner', 'Ikarus', 'Jamaican Gold', 'Joker', 'Kiffer Feuerkrauter', 'King B', 'Krypton', 'Mojo', 'Nirwana (angels dust)', 'Nirwana (angels kiss)', 'Relax', 'Scope sex on the beach', 'Scope vanilla', 'Scope wildberry', 'Sencation', 'Sencation Blackberry', 'Sencation Vanilla', 'Sence', 'Sence – Second Edition', 'Silent Black', 'Silent Red', 'Skunk', 'Sky High', 'Smok', 'Smok – Second Edition', 'Smoke', 'Smoke XXX','Spirit', 'Sun Coast Herbal Tea's D', 'Sun Coast Herbal Tea's H', 'Sun Coast Herbal Tea's S', 'Sun Coast Herbal Tea's SH', 'Tagetes Lucida 10x extract', 'Yucatan Fire', 'ZoHaiMX', 'ZoHai RX','ZoHai SX', 'Wild Dagga' etc.

Canabinoidele, atât cele naturale, cât şi cele de sinteză, se consumă sub cele mai diverse forme: fumat, mâncare, băuturi.

Canabisul, haşişul, Spice/ierburile, se fumează în formă pură sau în amestec cu tutun. Odată inhalate cu fumul de ţigară, substanţele active sunt absorbite de organism prin capilarele pulmonare. Efectul se instalează rapid după circa 10-20 de minute de la începerea fumatului.

Praful de canabis („Kief", Fig. 4) este produs din frunzele şi florile plantei, este bogat în canabinoid şi se consumă fie prin prizare directăsub formă de pudră, fie se produc produse de cofetărie (prăjituri, fursecuri, etc.) când se mănâncă (Fig. 5) sau se poate bea în amestec cu alcool (când de obicei se potenţează reciproc; un amestec de alcool etilic şi canabis este cunoscut sub numele de „Green Dragon") sau cu ceaiuri.

În cazul consumului sub formă de ceai sau produse de cofetărie, efectele psihoticese instalează mai târziu (după 1-2 ore).

Metabolizarea canabinoidelor

În funcţie de modul de introducere în organism, metabolizarea iniţială a canabinoidelor este diferită. Dacă sunt administrate prin fumat, atunci procesul de metabolizare începe chiar în plămâni şi apoi se continuă în sânge. Dacă sunt administrate oral, atunci canabinoidele sunt metabolizate mai întâi la nivelul tractului gastro-intestinal şi apoi se continuă în ficat, sânge.

Figura 4. Canabis praf („Kief")

Figura 5. Prăjituri conţinând canabis

O caracteristică importantă a canabinoidelor este aceea că ele persistă pentru perioade de timp extrem de lungi în organism, ceea ce uşurează detecţia lor. Chiar şi după o singură administrare de THC, niveluri detectabile de THC pot fi găsite în organism (urină) pentru săptămâni sau mai mult (în funcţie de cantitatea administrată şi de sensibilitatea metodei de evaluare). Însânge, THC este detectabil numai pentru 2-3 ore, iar THC-COOH pentru maxim 6 ore.

Canabinoide naturale: canabis, haşiş, marijuana, derivaţi

Literatura de specialitate descrie mai mult de 30 metaboliţi ai THC şi peste 20 în cazul canabinolului şi canabidiolului (identificaţi prin spectrometrie de masă). Mulţi dintre aceşti metaboliţi sunt la rândul lor substanţe psihoactive. Dintre aceşti metaboliţi, 9-carboxi-Δ^9-tetrahidrocanabinolul (THC-COOH) este principalul produs de metabolizare, şi este totodată de câteva ori mai activ ca drog comparativ cu THC.

Principalele două căi de metabolizare a THC sunt redate schematic în Fig. 6. Calea I, este calea majoră de metabolizare, şi constă în mai multe etape succesive: mai întâi are loc un proces de hidroxilare enzimatică (11-hidroxilare) aTHC, cu formarea 11-hidroxi-Δ^9-tetrahidrocanabinolul (11-OH-THC). Acesta din urma suferă un proces de oxidare la nivelul hidroxilului alcoolic, cu formarea principalului compus de metabolizare a THC, acidul 11-nor-9-carboxi-Δ^9-tetrahidrocanabinol (THC-COOH). THC-COOH poate suferi ulterior un

proces de glucuronoconjugare formând acidul glucuronat,acidul 11-nor-9-carboxi-Δ^9-tetrahidrocanabinol glucuronat (THC-COO-Glu).

Calea II, este calea secundară de metabolizare şi constă într-un proces de hidroxilare enzimatică a THC, dar de data aceasta o 8-hidroxilare, cu formarea unui amestec de 8-α-hidroxi-Δ^9-tetrahidrocanabinolul (8-α-OH-THC) şi 8-β-hidroxi-Δ^9-tetrahidrocanabinolul (8-β-OH-THC).

Aceşti produşi de metabolizare sunt eliminaţi în cea mai mare parte din organism prin urină, în special sub formă de THC-COOH şi THC-COO-Glu.

Canabinoide de sinteză din „Spice/Weed/ierburi"

Principalele căi de metabolizare ale canabinoidelor de sinteză constau în reacţii enzimatice de hidroxilare, oxidare, carboxilare, deshidratare şi N-dealchilare, care conduc la circa 10-25 metaboliţi (identificaţi prin spectrometrie de masă). Aşa spre exemplu, în cazul JWH-018 (M = m/z = 234), literatura de specialitate descrie existenţa a 17 metaboliţi, rezultaţi în urma unei scheme de metabolizare cum este cea redată schematic în Figura 7. Principalele reacţii de metabolizare sunt:

- monohidroxilarea la nivelul nucleului indolic, naftalenic sau a lanţului N-alchilic, care conduc la metaboliţii M1 (M=m/z= 358).M1 suferă în continuare 3 căi posibile de metabolizare:
  a. *calea I*, constă în două hidroxilări succesive ale lui M1 care conduc la metaboliţii din M2 (M = m/z = 374) şi respectiv M3 (M = m/z = 390). Prin deshidratare şi dehidrogenare ulterioară a lui M3 se obţine metabolitul M6 (M = m/z = 372);
  b. *calea II*, constă iniţial într-o deshidratare şi dehidrogenare a lui M1, care conduce la metabolitul M4 (M = m/z = 340). Prin două hidroxilări succesive din M4 se obţin metaboliţii M5 (M = m/z = 356) şi respectiv M6 (M = m/z = 372);
  c. *calea III*, constă în dezalchilarea lui M1, care conduce la M12 (M = m/z = 288);
- oxidarea unuia din nucleele benzenice din scheletul naftalenic a lui JWH-018, urmată de hidroliza epoxidului intermediar, conduce la metaboliţii dioli M7 (şi M7') (M = m/z = 376). Dezalchilarea metaboliţilor dioli M7 conduce la metaboliţii dioli dezalchilaţi M10 (şi M10') (M = m/z = 306), pe când

BCU IASI / CENTRUL UNIVERSITAR LIBRARY

monohidroxilarea lui M7 conduce la metaboliții trioli M8 (și M8')(M = m/z = 392). Monohidroxilarea lui M8 va conduce la metaboliții tetraoli M9 (și M9') (M = m/z = 408);

- carboxilarea lui JWH-018 va conduce la metabolitul carboxilat M13 (M = m/z = 372).

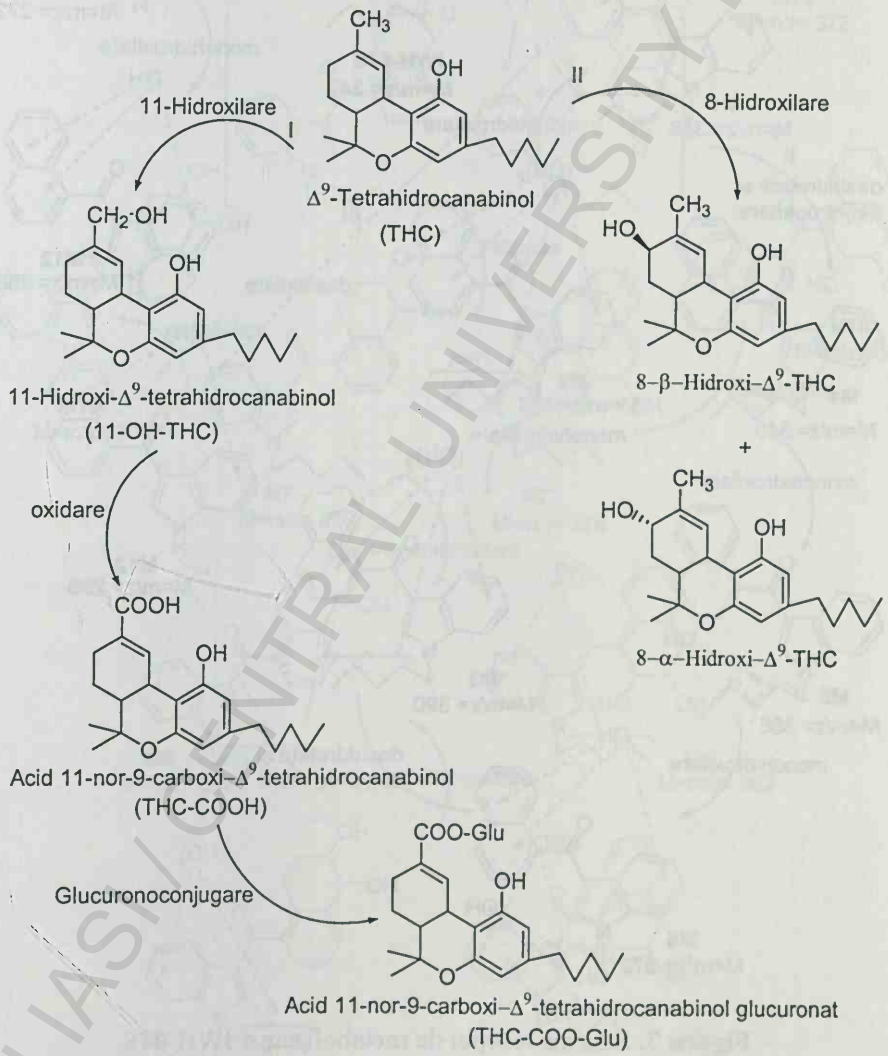


Figura 6. Schema reacției de metabolizare a THC

BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

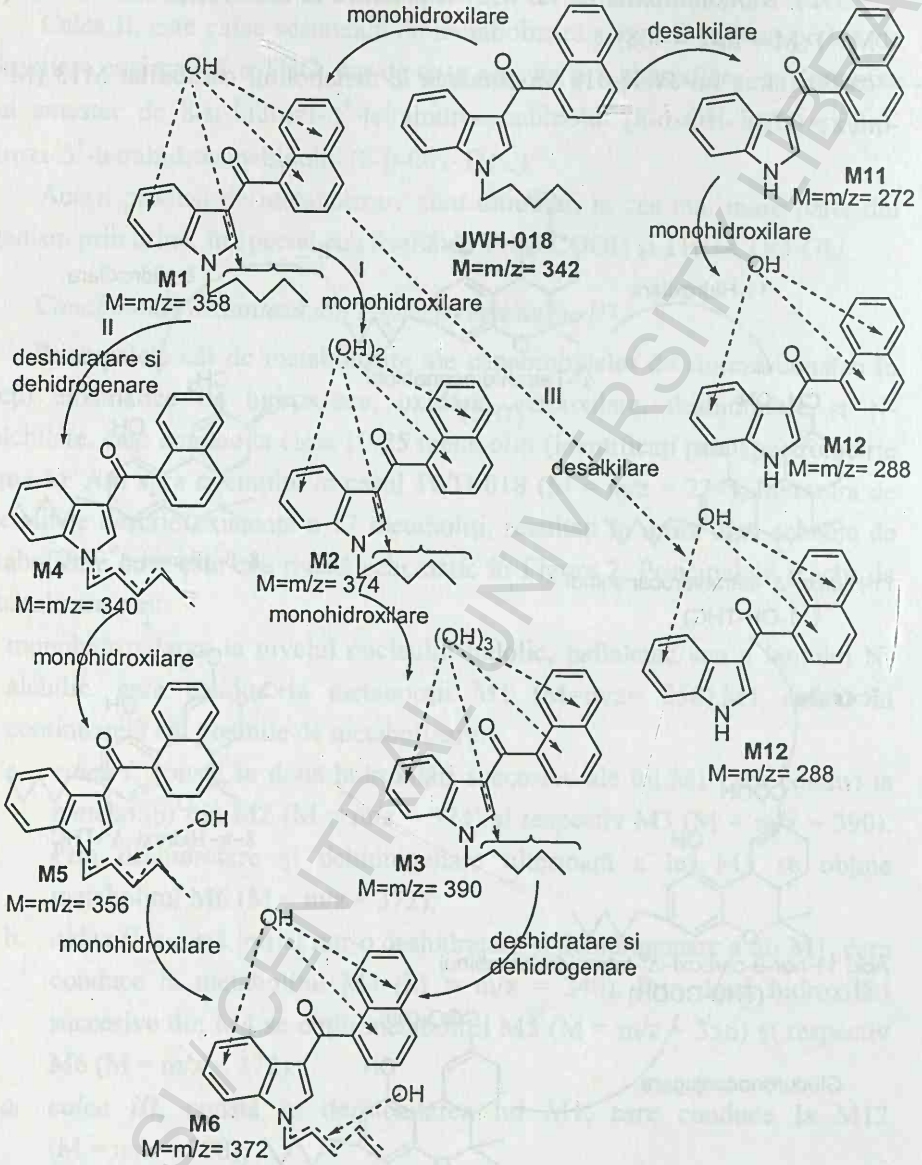


Figura 7. Schema reacţiei de metabolizare a JWH-018

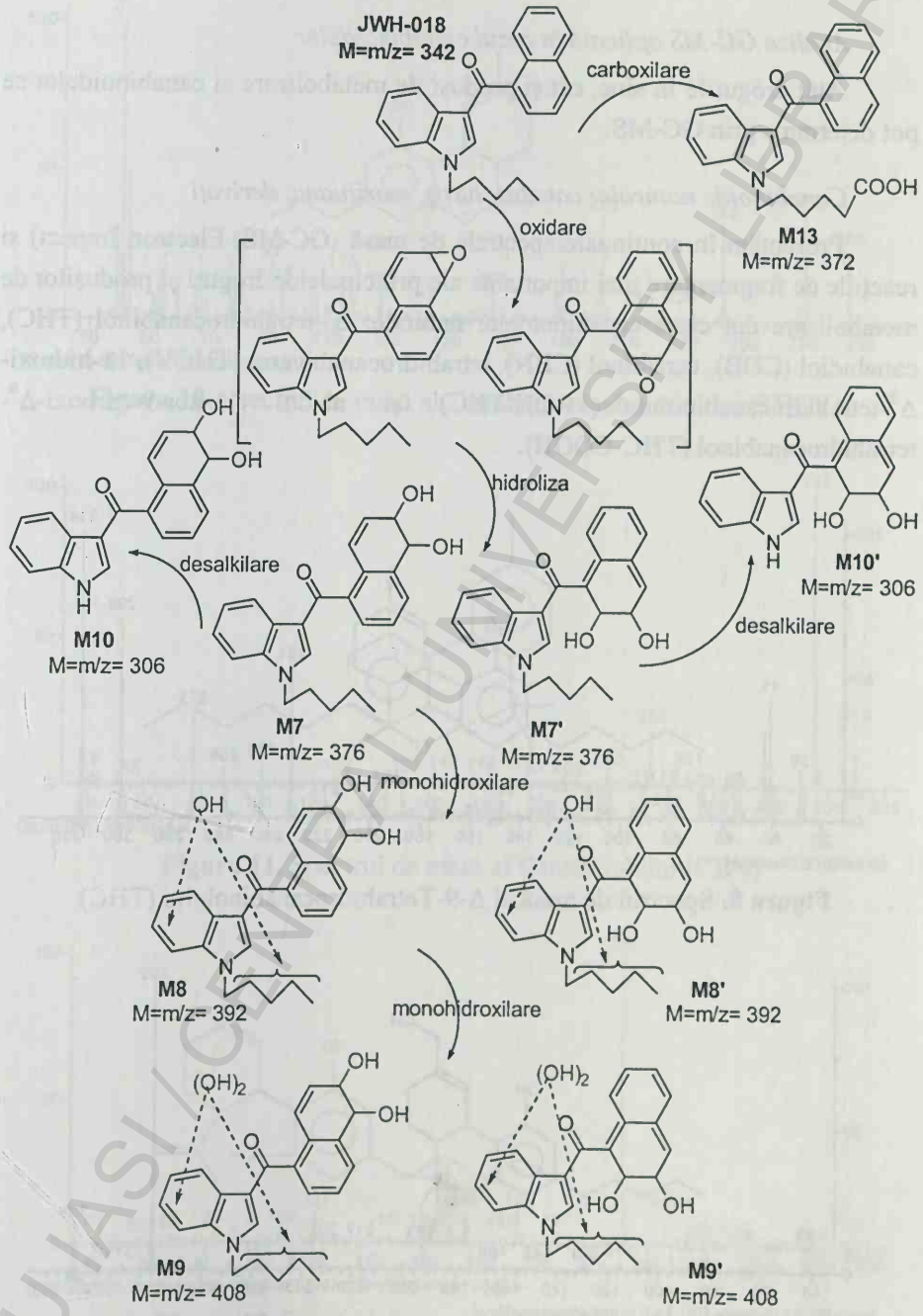


Figura 7. Schema reacţiei de metabolizare a JWH-018 (continuare)

BCU IASI / CAROL I UNIVERSITY LIBRARY

Analiza GC-MS aplicată în cazul canabinoidelor

Atât drogurile în sine, cât şi produşi de metabolizare ai canabinoidelor se pot determina prin GC-MS.

Canabinoide naturale: canabis, haşiş, marijuana, derivaţi

Prezentăm în continuare spectrele de masă (GC-MS, Electron Impact) şi reacţiile de fragmentare mai importante ale principalelor droguri şi produşilor de metabolizare din clasa canabinoidelor naturale: Δ^9-tetrahidrocanabinol (THC), canabidiol (CDB), canabinol (CBN), tetrahidrocanabivarin (THCV), 11-hidroxi-Δ^9-tetrahidrocanabinolul (11-OH-THC) şi acidul 11-nor-9-carboxi-Δ^9-tetrahidrocanabinol (THC-COOH).

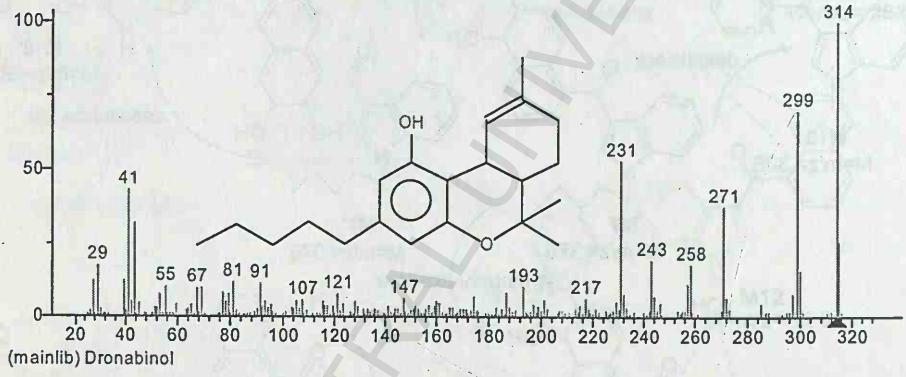


Figura 8. Spectrul de masă al Δ-9-Tetrahidrocanabinolului (THC)

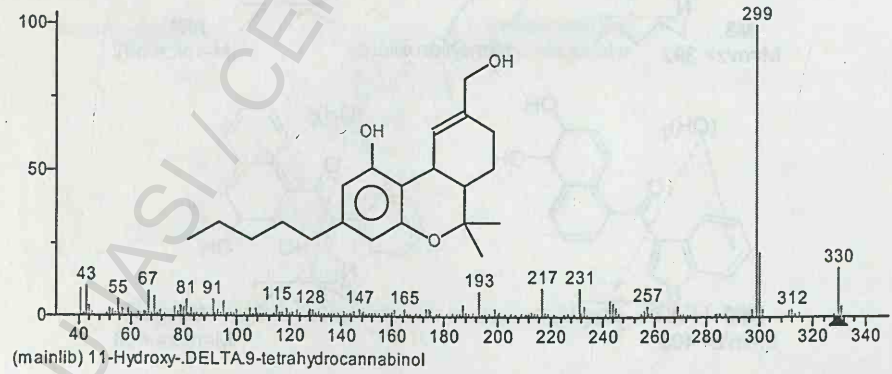


Figura 9. Spectrul de masă al 11-Hidroxi-Δ-9-tetrahidrocanabinolului (11-OH-THC)

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

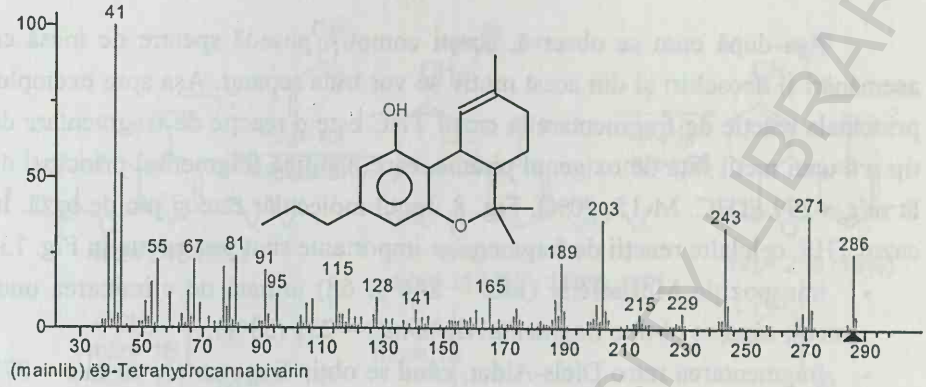


Figura 10. Spectrul de masă al Tetrahidrocanabivarinului (THCV)

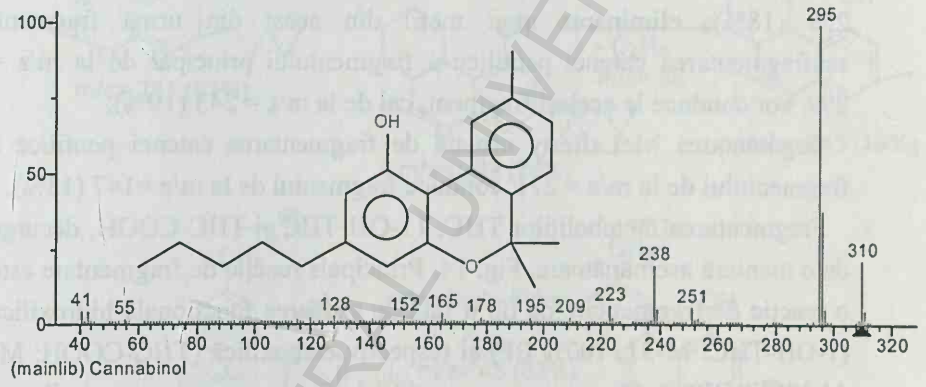


Figura 11. Spectrul de masă al Canabinolului (CBN)

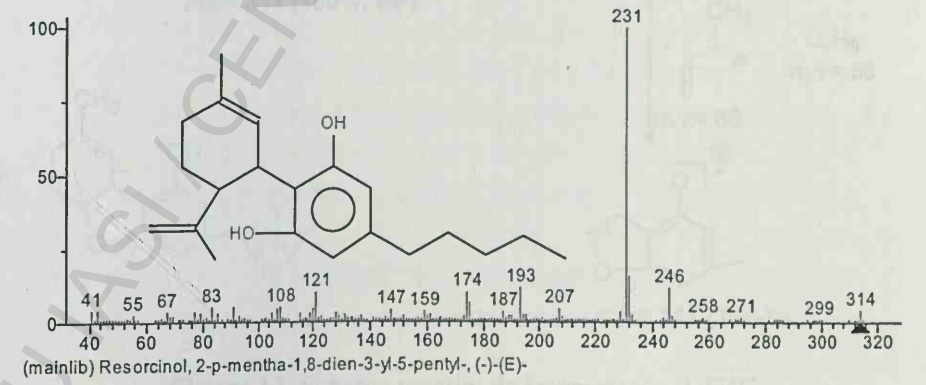


Figura 12. Spectrul de masă al Canabidiolului (CBD)

BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Aşa după cum se observă, aceşti compuşi posedă spectre de masă cu asemănări şi deosebiri şi din acest motiv se vor trata separat. Aşa spre exemplu, principala reacţie de fragmentare în cazul THC este o reacţie de fragmentare de tip α a unui metil faţă de oxigenul piranic, care justifică fragmentul principal de la m/z = 299 (THC: M-15, 70%), Fig. 8. Ionul molecular este şi pic de bază. În cazul THF, celelalte reacţii de fragmentare importante sunt prezentate în Fig. 13:

- transpoziţie McLafferty (m/z = 246 şi 68) urmată de eliminarea unui metil, când se obţine fragmentul de la m/z = 231 (53%);
- fragmentarea retro Diels-Alder, când se obţin fragmentele cu m/z = 271 (37%) şi m/z = 43 (32%);
- fragmentarea catenei pentilice, când se obţine fragmentul de la m/z = 258 (18%); eliminarea unui metil din acest din urmă fragment, saufragmentarea catenei pentilice a fragmentului principal de la m/z = 299, vor conduce la acelaşi fragment, cel de la m/z = 243 (19%);
- fragmentarea McLafferty urmată de fragmentarea catenei pentilice a fragmentului de la m/z = 271, conduce fragmentul de la m/z =147 (13%);
- Fragmentarea metaboliţilor THC, 11-OH-THC şi THC-COOH, decurge de o manieră asemănătoare, Fig. 14. Principala reacţie de fragmentare este o reacţie de fragmentare de tip α faţă de gruparea funcţională hidroxilică (1-OH-THC: M-31, 100% BP) şi respectiv carboxilică (THC-COOH: M-44,100%, BP), iar în continuare reacţiile de fragmentare decurg similar ca în cazul THC.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

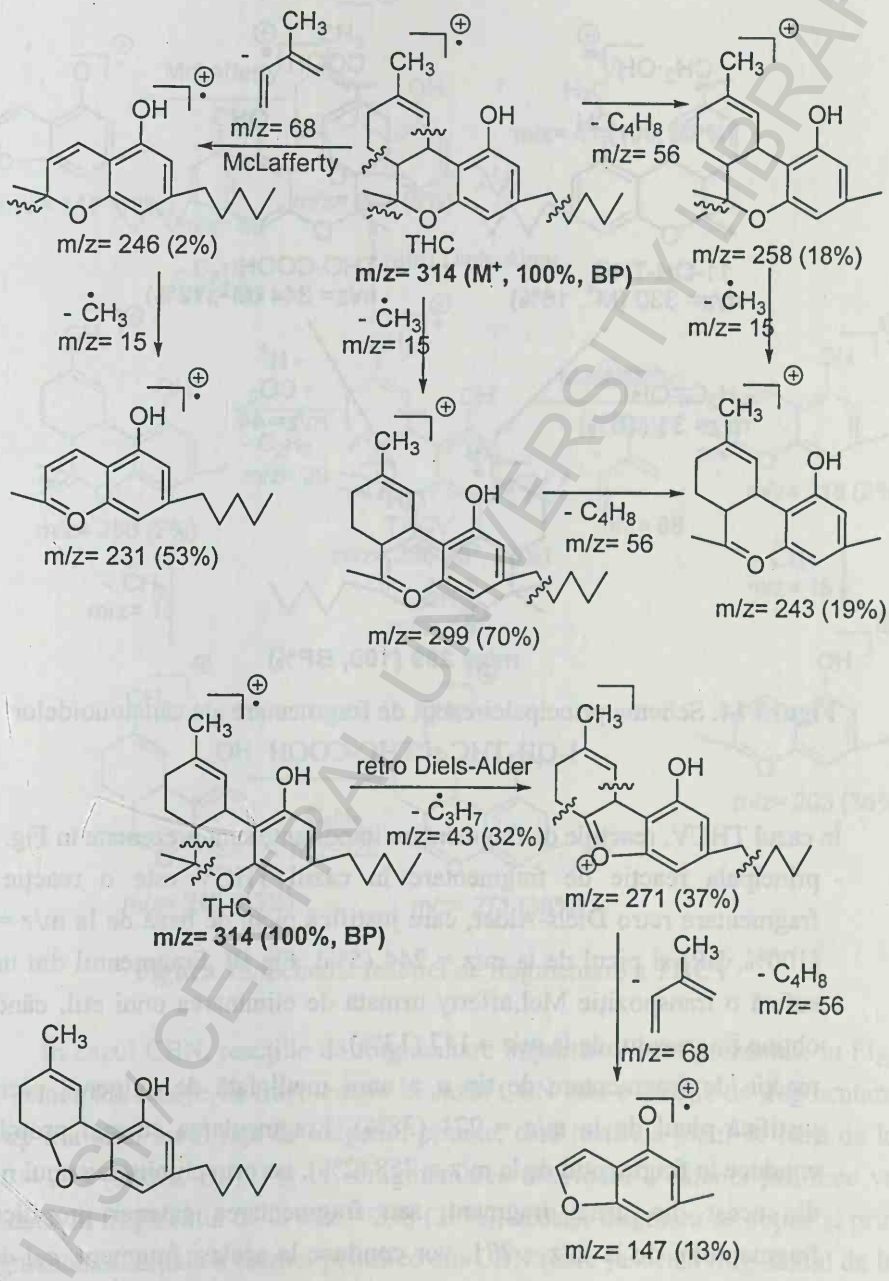


Figura 13. Schema reacției de fragmentare al THC

BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

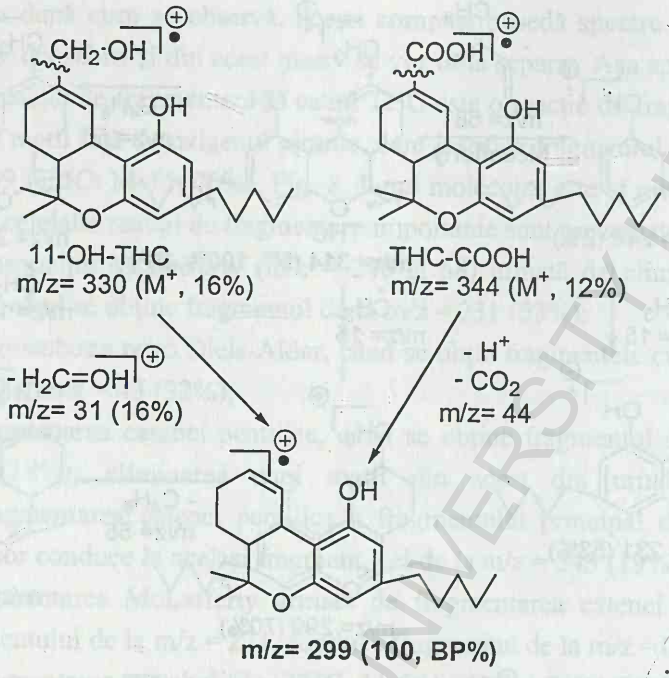


Figura 14. Schema principaleireacţii de fragmentare ale canabinoidelor 1-OH-THC şi THC-COOH

În cazul THCV, reacţiile de fragmentare importante sunt prezentate în Fig. 15:

- principala reacţie de fragmentare în cazul THCV este o reacţie de fragmentare retro Diels-Alder, care justifică picul de bază de la m/z = 41 (100%, BP) şi picul de la m/z = 244 (5%), Fig.10. Fragmentul din urmă suferă o transpoziţie McLafferty urmată de eliminarea unui etil, când se obţine fragmentul de la m/z = 147 (13%);
- reacţia de fragmentare de tip α a unui metil faţă de oxigenul piranic, justifică picul de la m/z = 271 (38%). Fragmentarea catenei propilice, conduce la fragmentul de la m/z = 258 (2%), iar prin eliminarea unui metil din acest din urmă fragment, sau fragmentarea catenei propilice a fragmentului de la m/z = 271, vor conduce la acelaşi fragment, cel de la m/z=243 (33%);
- transpoziţia McLafferty (m/z = 218 şi 68) a THCV urmată de eliminarea unui metil, conduce la fragmentul de la m/z = 203 (36%).

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

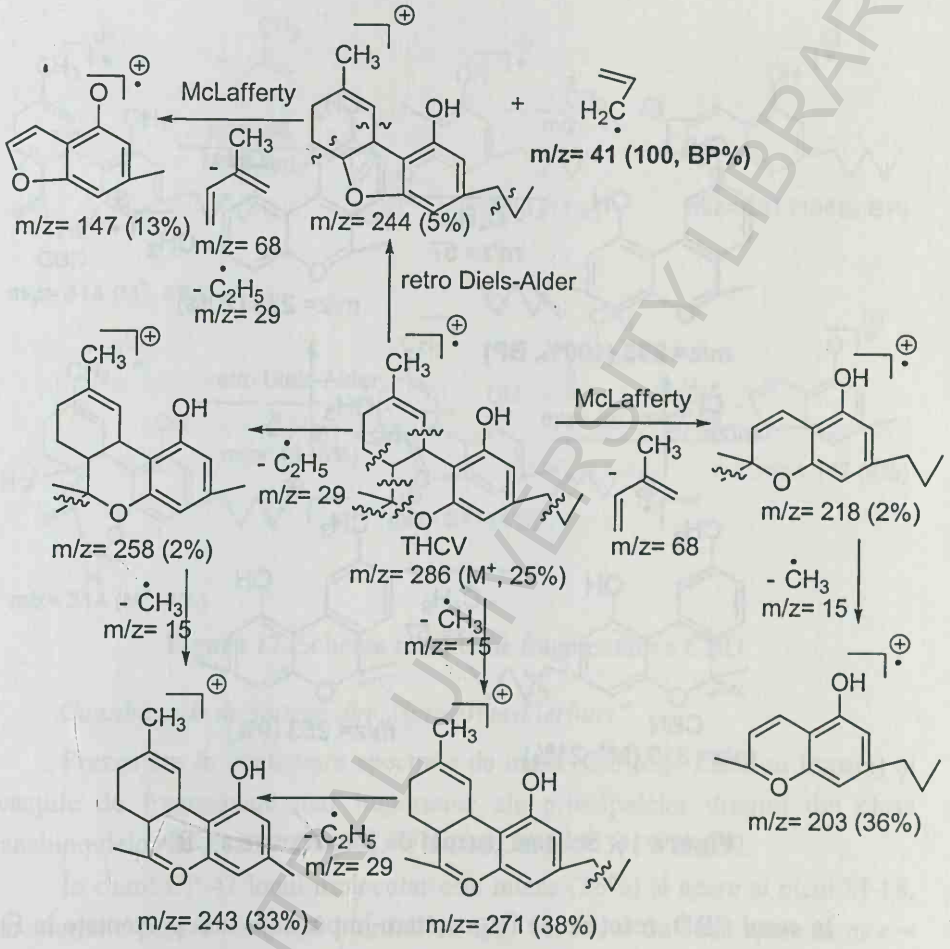


Figura 15. Schema reacţiei de fragmentare a THCV

În cazul CBN, reacţiile de fragmentare importante sunt prezentate în Fig. 16. Principala reacţie de fragmentare în cazul CBN este o reacţie de fragmentare de tip α a unui metil faţă de oxigenul piranic, care justifică picul de bază de la m/z = 295 (100%, BP), Fig.11. Fragmentarea ulterioară a catenei pentilice va conduce la fragmentul de la m/z = 238 (20%); acelaşi fragment se obţine şi prin fragmentarea iniţială a catenei pentilice din CBN (care justifică fragmentul de la m/z = 253 (9%)) urmată de fragmentare de tip α a unui metil faţă de oxigenul piranic.

BCU CLUJ / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

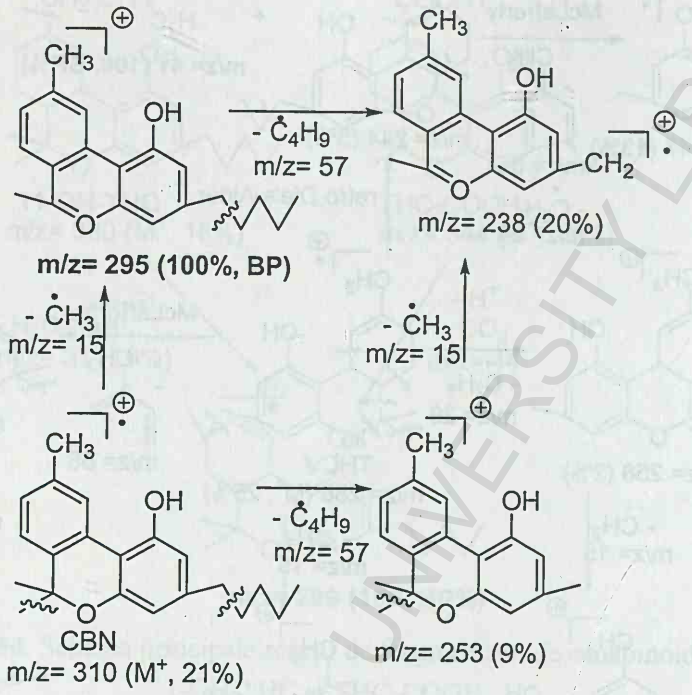


Figura 16. Schema reacţiei de fragmentare a CBN

În cazul CBD, reacţiile de fragmentare importante sunt prezentate în Fig. 17. Principala reacţie de fragmentare în cazul CBN este o transpoziţie McLafferty urmată de eliminarea unui metil, care justifică atât obţinerea picului de bază de la m/z = 231 (BP, 100%), cât şi a fragmentului de la m/z = 246 (11%), Fig. 12. O altă linie de fragmentare constă într-o fragmentare iniţială de tip retro Diels-Alder (care justifică fragmentele de la m/z = 271 (4 %) şi m/z = 43 (6%)) urmată de o transpoziţie McLafferty şi o fragmentarea catenei pentilice, când se obţin fragmentele de la m/z = 147 (4%), 56, 68.

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

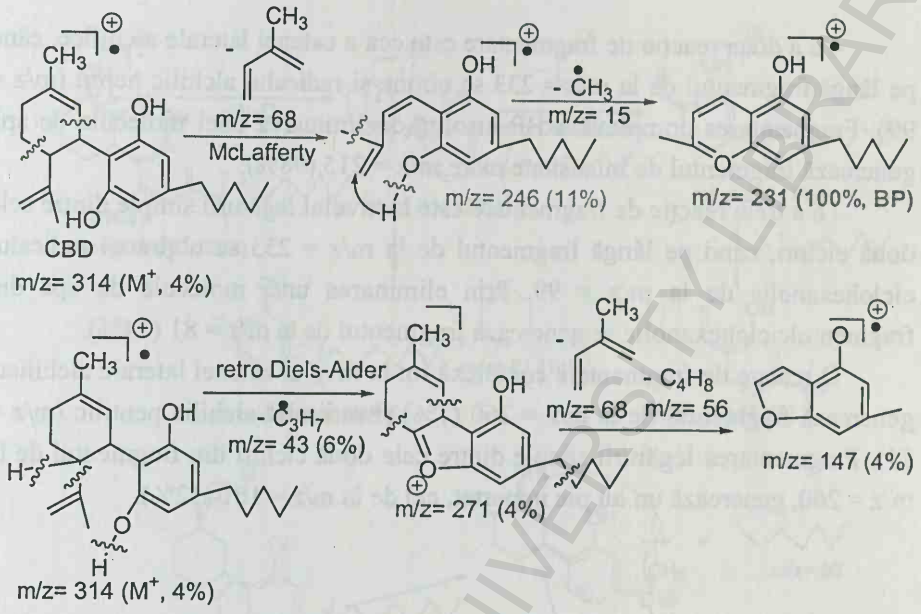


Figura 17. Schema reacţiei de fragmentare a CBD

Canabinoide de sinteză din „Spice/Weed/ierburi"

Prezentăm în continuare spectrele de masă (GC-MS, Electron Impact) şi reacţiile de fragmentare mai importante ale principalelor droguri din clasa canabinoidelor de sinteză: CP-47, JWH-018, JWH-073, JWH-250.

În cazul CP-47 ionul molecular este intens (26%) şi apare şi picul M-18, caracteristic pentru compuşii hidroxilici, Fig. 18. Picul de bază apare la m/z = 233 (BP, 100%), şi este justificat prin trei reacţii de fragmentare posibile (Fig. 19):

- o reacţie de fragmentare la nivelul grupării hidroxil din inelul ciclohexanolic (însoţită de eliminarea unei molecule de apă), care generează fragmentul de la m/z = 314 (26%). Acest fragment suferă ulterior o fragmentare la nivelul legăturii simple dintre cele două cicluri, generând picul de bază de la m/z = 233 şi fragmentul ciclohexenilic de la m/z = 81 (14%). Fragmentarea complexă de tip retro Diels-Alder a fragmentului de la m/z= 314, generează picul importat de la m/z = 260 (7%), din care ulterior printr-o reacţie de fragmentare a catenei laterale alchilice, se generează fragmentul de la m/z = 161 (12%) şi radicalul alchilic heptil (m/z = 99);

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

- o a doua reacţie de fragmentare este cea a catenei laterale alchilice, când pe lângă fragmentul de la m/z = 233 se obţine şi radicalul alchilic heptil (m/z = 99). Fragmentarea complexă a BP însoţită deeliminarea unei molecule de apă generează fragmentul de intensitate mare m/z = 215 (98%);

- o a treia reacţie de fragmentare este la nivelul legăturii simple dintre cele două cicluri, când pe lângă fragmentul de la m/z = 233 se obţine şi radicalul ciclohexanolic de la m/z = 99. Prin eliminarea unei molecule de apă din fragmentulciclohexanolic se generează fragmentul de la m/z = 81 (14%).

O reacţie de fragmentare complexă tot la nivelul catenei laterale alchilice, generează fragmentul de la m/z = 260 (7%) şi radicalul alchilic pentilic (m/z = 71). Fragmentarea legăturii simple dintre cele două cicluri din fragmentul de la m/z = 260, generează un alt pic importat, cel de la m/z = 161 (12%).

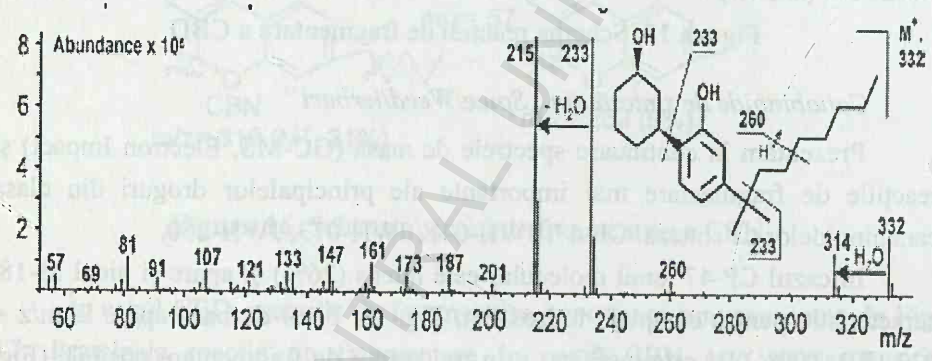


Figura 18. Spectrul de masă al CP-47

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

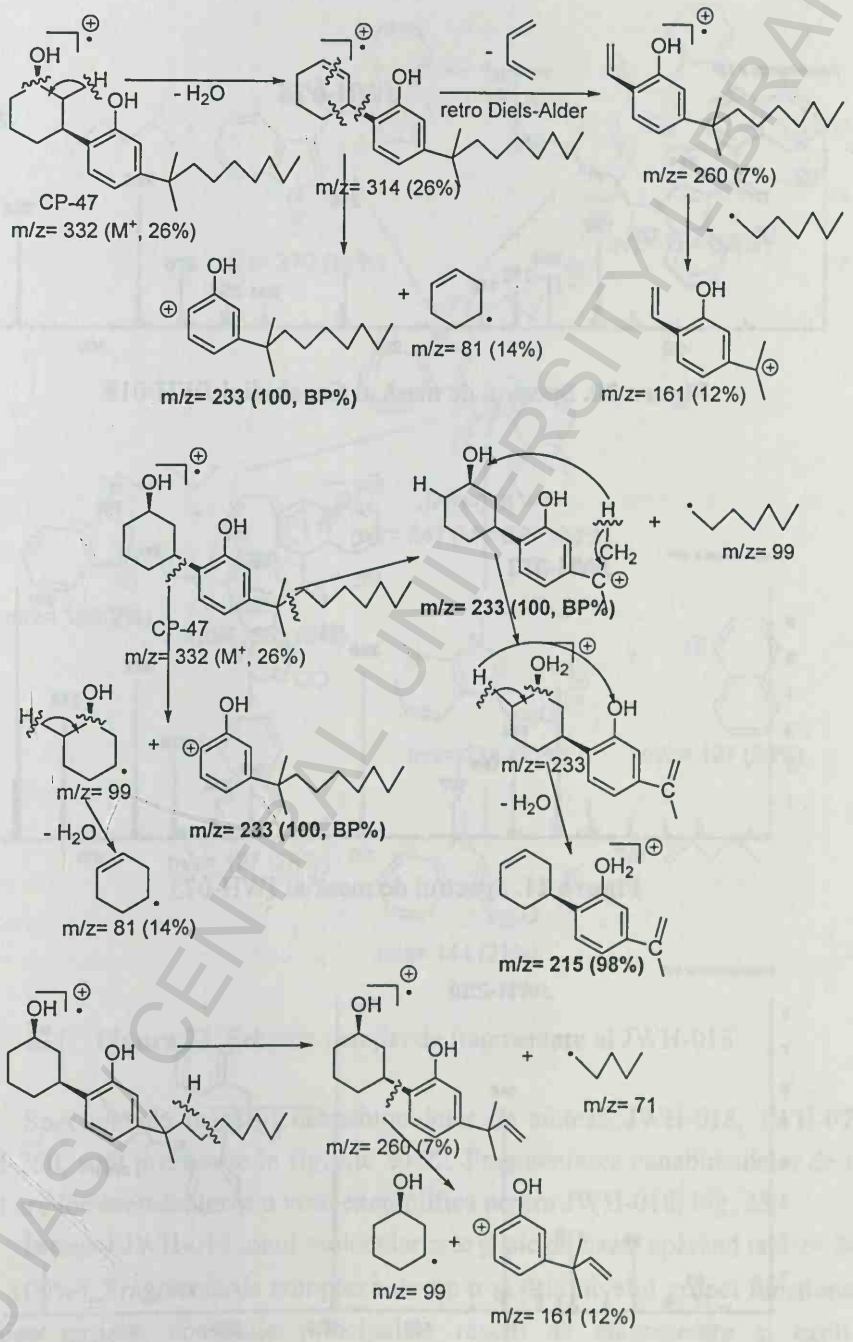


Figura 19. Schema reacţiei de fragmentare al CP-47

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

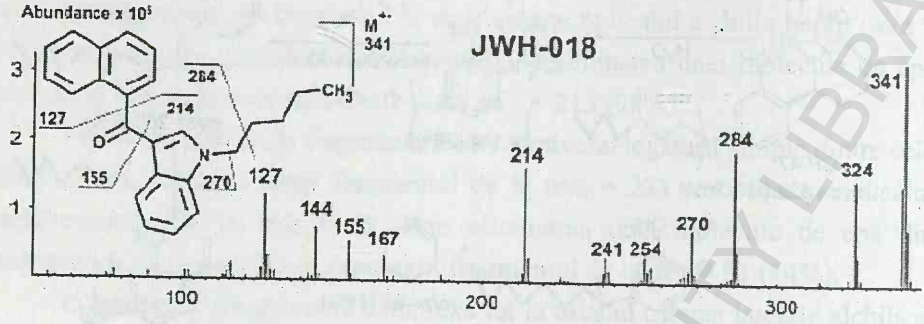


Figura 20. Spectrul de masă al Canabidiol JWH-018

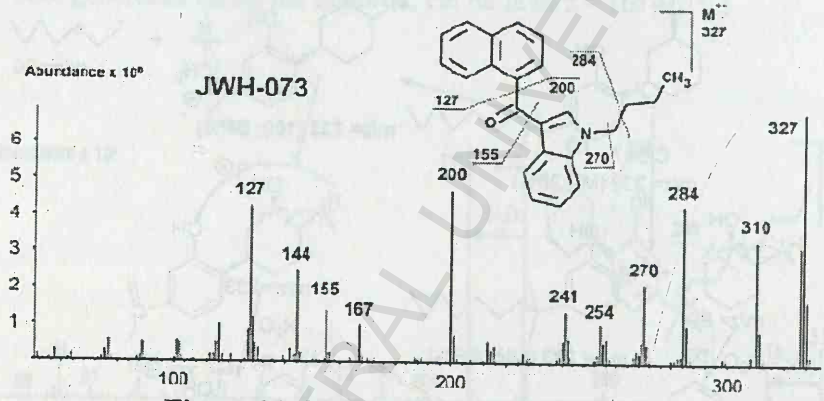


Figura 21. Spectrul de masă al JWH-073

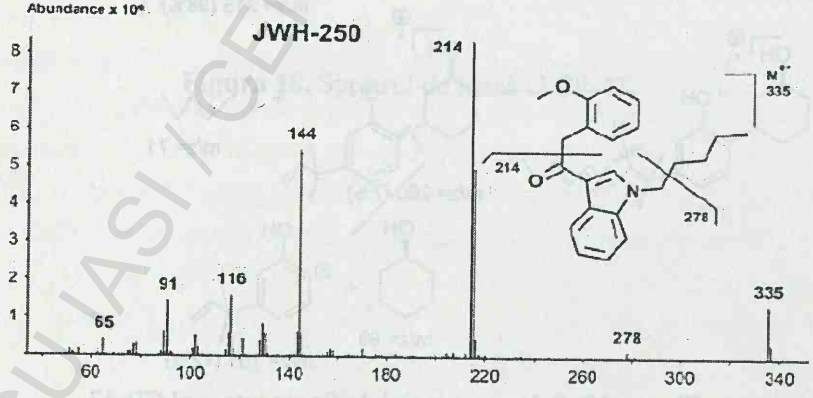


Figura 22. Spectrul de masă al JWH-250

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

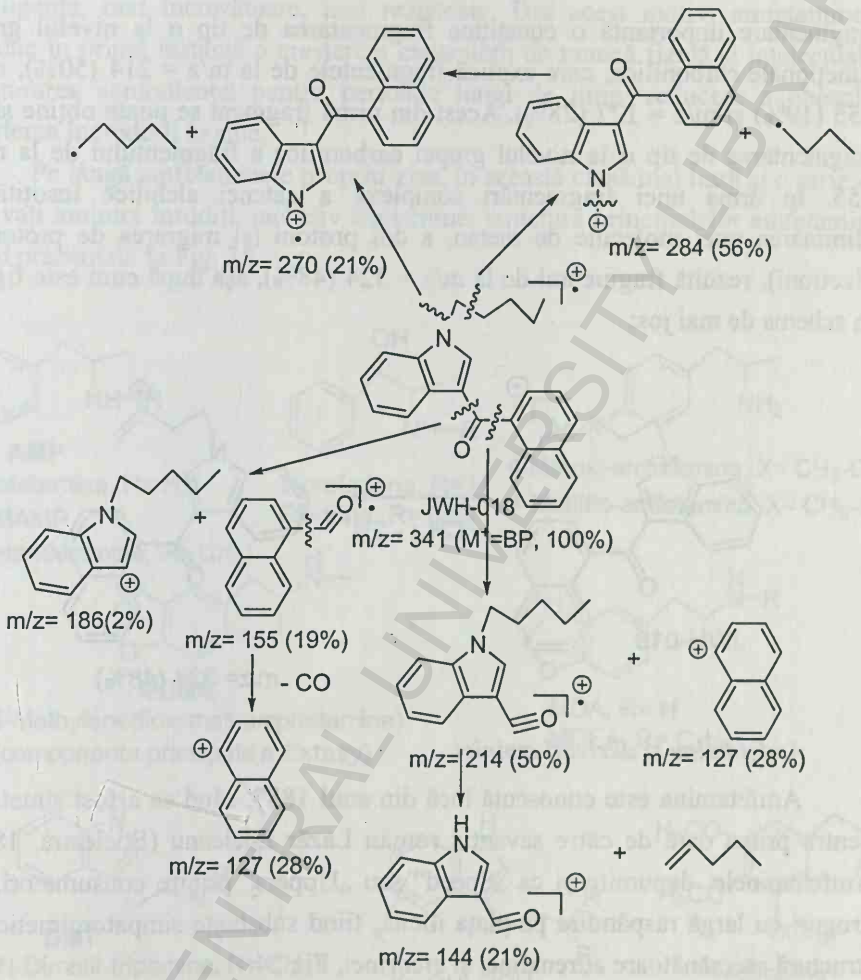


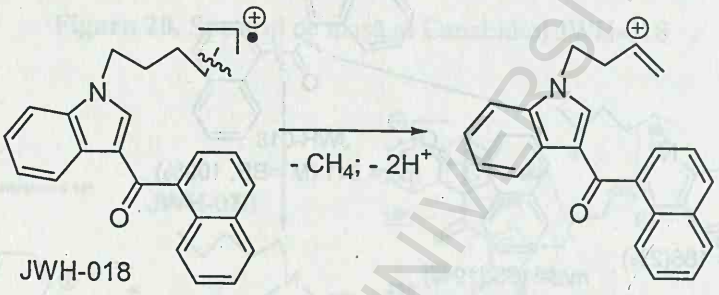
Figura 23. Schema reacţiei de fragmentare al JWH-018

Spectrele de masă ale canabinoidelor de sinteză JWH-018, JWH-073, JWH-250, sunt prezentate în figurile 20-22. Fragmentarea canabinoidelor de tip JWH are loc asemănător şi o vom exemplifica pentru JWH-018, Fig. 23.

În cazul JWH-018 ionul molecular este şi pic de bază, apărând lam/z= 241 (BP, 100%). Fragmentările complexe de tip α şi β la nivelul grupei funcţionale aminice terţiare, constituie principalele reacţii de fragmentare şi explică fragmentele de la m/z = 284 (56%) şi de la m/z = 270 (21%). O altă reacţie de

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

fragmentare importantă o constituie fragmentarea de tip α la nivelul grupei funcţionale carbonilice, care explică fragmentele de la m/z = 214 (50%), m/z= 155 (19%) şi m/z = 127 (28%). Acest din urmă fragment se poate obţine şi din fragmentarea de tip α la nivelul grupei carbonilice a fragmentului de la m/z= 155. În urma unei fragmentări complexe a catenei alchilice însoţită de eliminarea unei molecule de metan, a doi protoni (şi migrarea de protoni şi electroni), rezultă fragmentul de la m/z = 324 (48%), aşa după cum este figurat în schema de mai jos:



Amfetamine şi derivaţi aminici

Amfetamina este cunoscută încă din anul 1887, când ea a fost sintetizată pentru prima oară de către savantul român Lazăr Edeleanu (Edeleanu, 1887). Amfetaminele, denumite şi ca „Speed" sau „Uppers" printre consumatori,sunt droguri cu largă răspândire pe piaţa ilicită, fiind substanţe simpatomimetice cu structură asemănătoare adrenalinei şi efedrinei, Fig.24.

Figura 24. Structura amfetaminei şi analogi

Efectele euforice ale amfetaminelor se manifestă la consumatori printr-o senzaţie de energie sporită, de bine, persoanele respective simţindu-se mai

inteligente, mai încrezătoare, mai rezistente. Din acest motiv, amfetaminele produc în primă instanţă o creştere a capacităţii de muncă fizică şi intelectuală, înlăturarea somnolenţei pentru perioade lungi de timp, reducere a oboselii, creşterea încrederii în sine.

Pe lângă amfetaminele propriu-zise, în această clasă mai intră şi o serie de derivaţi aminici înrudiţi, inclusiv triptamine, structura principalelor amfetamine fiind prezentată în Fig. 25.

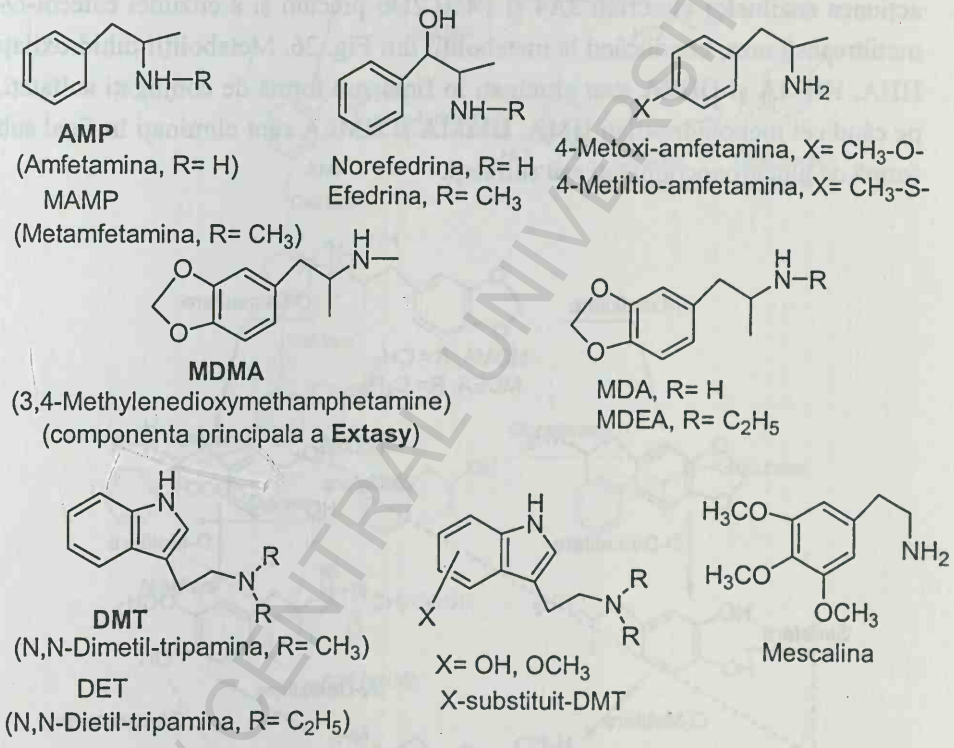


Figura 25. Structura principalelor amfetamine

Amfetaminele se consumă sub cele mai diverse forme: administrare parenterală, mâncare, băuturi.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Metabolizarea amfetaminelor

În funcţie de structura lor, substituite sau nesubstituite la nucleul fenilic, amfetaminele se metabolizează în organism sub influenţa unor enzime specifice, iar produşii de metabolizare sunt eliminaţi în final sub formă de glucuronoconjugaţi sau sulfataţi prin urină (majoritar) şi fecale.

Astfel, MDMA, MDEA, MDA (amfetamine substituite la nucleul fenilic) sunt metabolizate prin procese de *N*-dealchilare, *N*-demetilare şi *O*-metilare,sub acţiunea enzimelor citocrom 3A4 şi P450 2D6 precum şi a enzimei catecol-*O*-metiltreansferaza, conducând la metaboliţii din Fig. 26. Metaboliţii dihidroxilaţi HHA, HHMA şi HHEA sunt eliminaţi în final sub formă de conjugaţi sulfataţi, pe când cei monohidroxilaţi HMA, HMMA şi HMEA sunt eliminaţi în final sub formă de glucuronoconjugaţi sau sulfataţi.

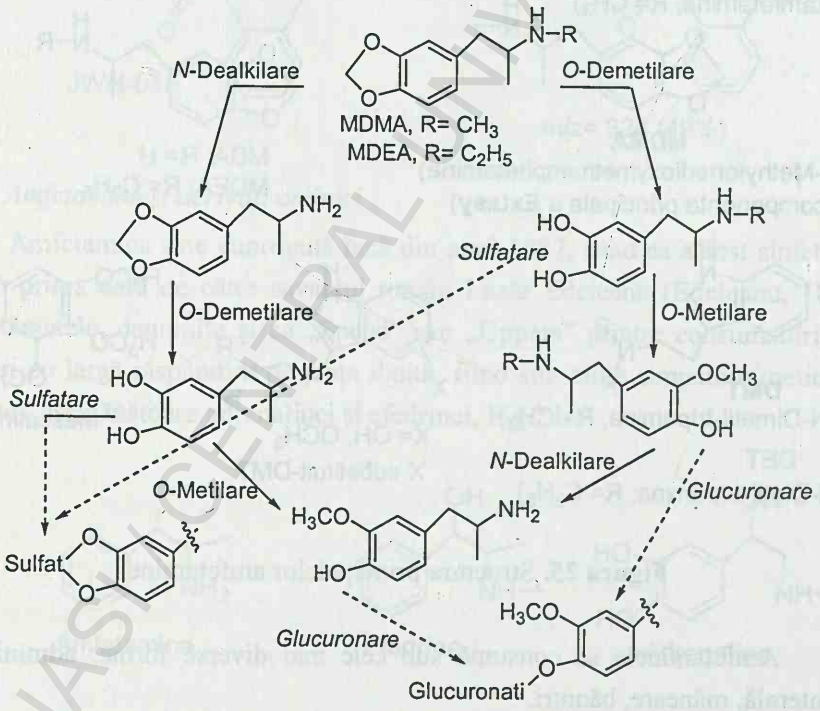


Figura 26. Schema reacţiei de metabolizare pentru amfetamine substituite la nucleu

În ceea ce priveşte metabolizarea AMP şi MAMP (amfetamine nesubstituite la nucleul fenilic),acestea sunt metabolizate prin procese de *N*-dealchilare, *para*-hidroxilare, *N*-acilare, reducere şi oxidare, iar metaboliţii rezultaţi sunt eliminaţi în final sub formă de glucuronoconjugaţi sau sulfataţi, şi chiar sub formă de acid hipuric.

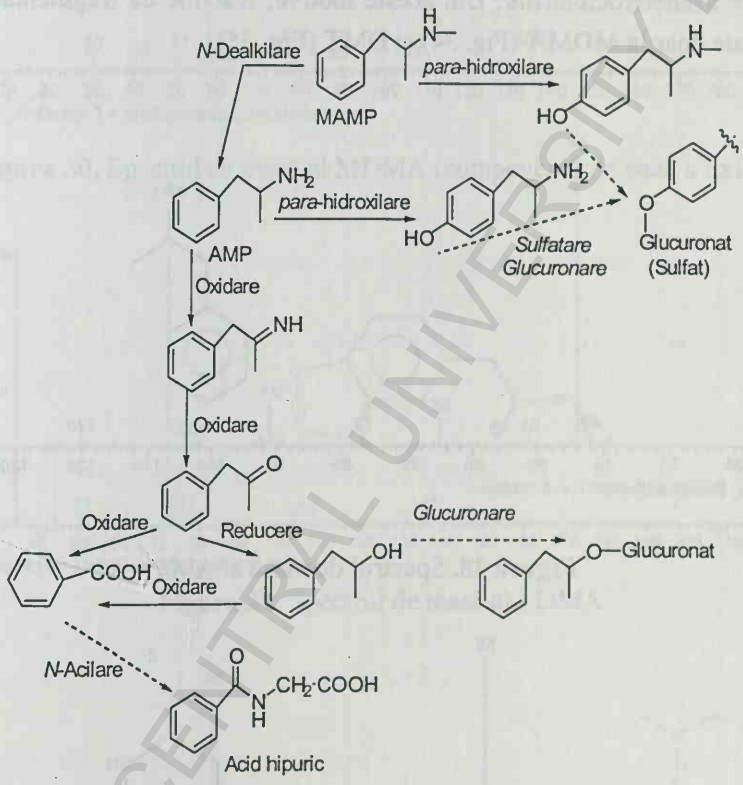


Figura 27. Schema reacţiei de metabolizare pentru amfetamine nesubstituite la nucleu

Analiza GC-MS aplicată la amfetamine

Prezentăm în continuare spectrele de masă (GC-MS, Electron Impact) şi reacţiile de fragmentare mai importante ale principalelor droguri din clasa amfetaminelor:

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

- amfetamine tipice: AMP, MAMP, MDMA, MDEA;
- amfetamine din clasa triptaminelor: DMT, 7-Metoxy-DMT.

Aşa după cum se observă, aceşti compuşi posedă spectre de masă asemănătoare, doar derivaţii triptaminici prezentând câteva particularităţi specifice azaheterociclurilor. Din aceste motive, reacţiile de fragmentare vor fi prezentate doar la MDMA (Fig. 34) şi DMT (Fig. 35).

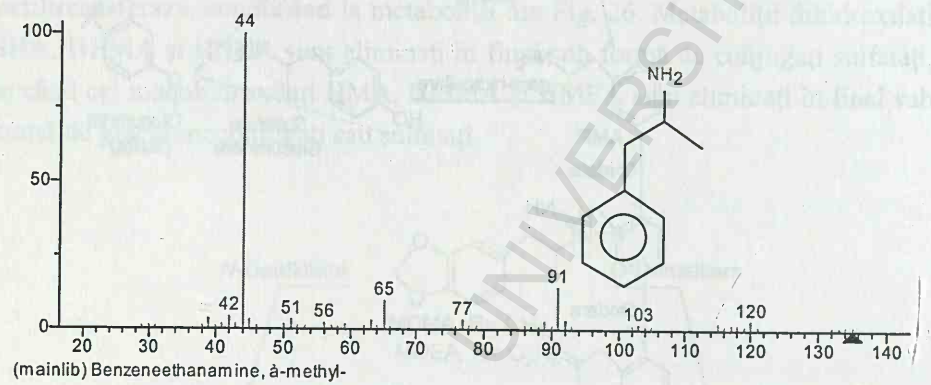


Figura 28. Spectrul de masă al AMP

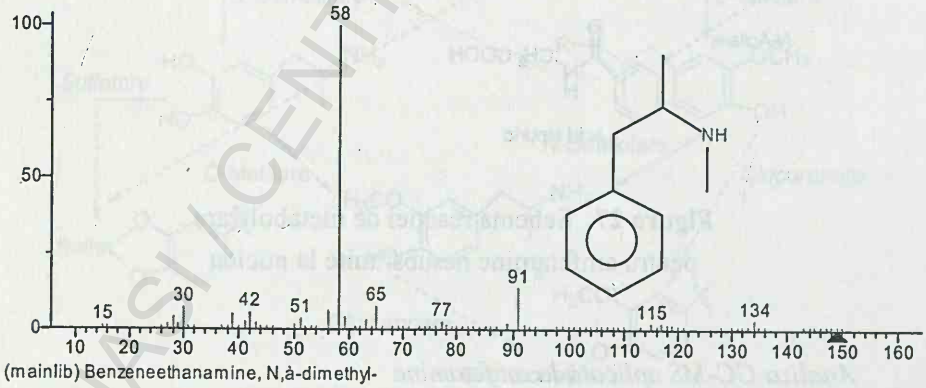


Figura 29. Spectrul de masă al MAMP

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

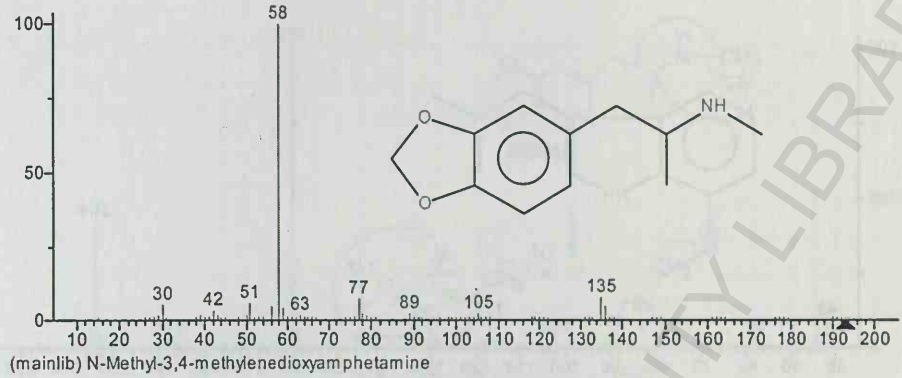


Figura 30. Spectrul de masă al MDMA (componentă de bază a Extasy)

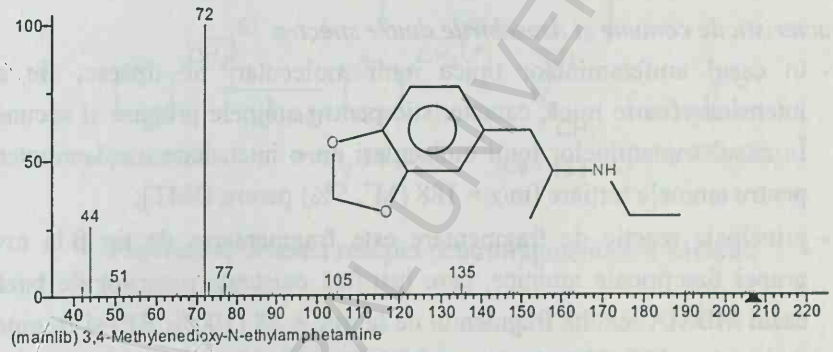


Figura 31. Spectrul de masă al EDMA

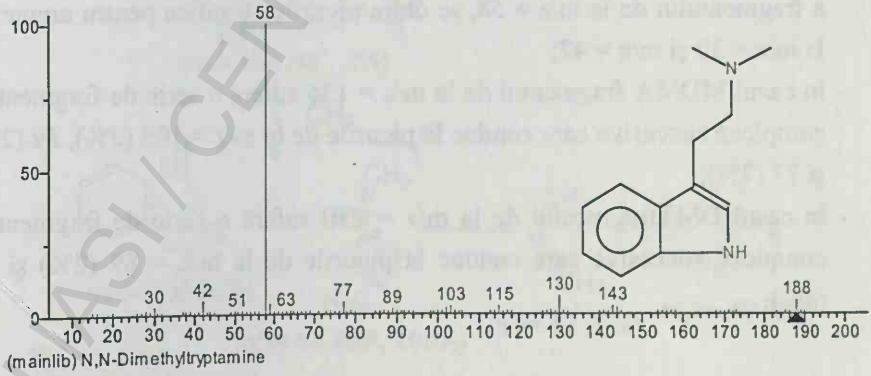


Figura 32. Spectrul de masă al DMT

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

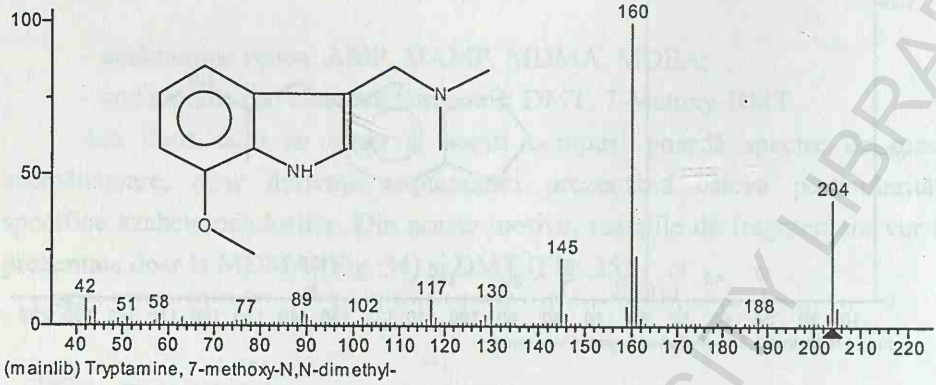


Figura 33. Spectrul de masă al 7-Metoxi-DMT

Caracteristicile comune şi deosebirile dintre spectre

- în cazul amfetaminelor tipice ionii moleculari fie lipsesc, fie au o intensitate foarte mică, caracteristic pentru aminele primare şi secundare. În cazul triptaminelor ionii moleculari au o intensitate mică,caracteristic pentru aminele terţiare [m/z = 188 (M^+, 5%) pentru DMT];
- principala reacţie de fragmentare este fragmentarea de tip β la nivelul grupei funcţionale aminice, care justifică existenţa picurilor de bază. În cazul MDMA rezultă fragmentul de la m/z = 58 (100%, BP) şi fragmentul de la m/z = 135 (8%), iar în cazul DMT rezultă fragmentul de la m/z = 58 (100%, BP) şi fragmentul de la m/z = 130 (6%). Prin scindarea ulterioară a fragmentului de la m/z = 58, se obţin picurile specifice pentru amine de la m/z = 30 şi m/z = 42;
- în cazul MDMA fragmentul de la m/z = 135 suferă o serie de fragmentări complexe succesive care conduc la picurile de la m/z = 105 (2%), 89 (2%) şi 77 (7%);
- în cazul DMTfragmentul de la m/z = 130 suferă o serie de fragmentări complexe succesive care conduc la picurile de la m/z = 89 (2%) şi 77 (4%).

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

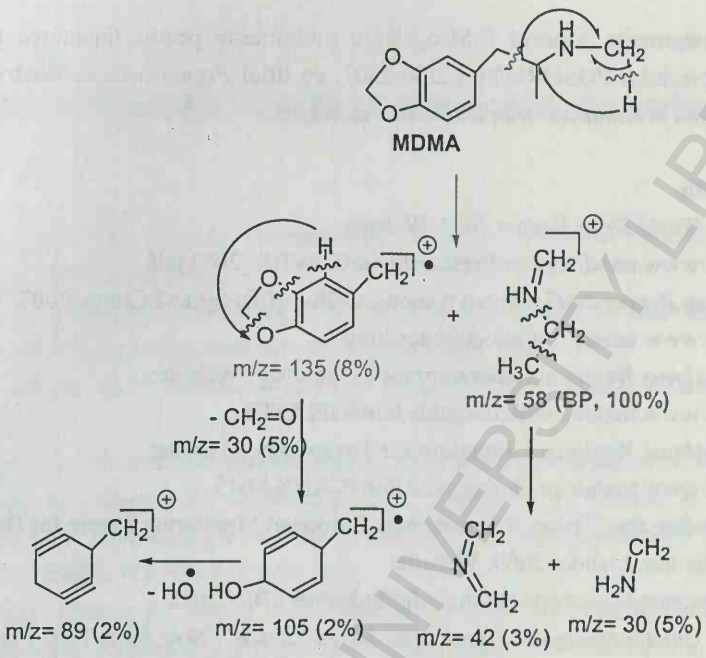


Figura 34. Schema reacţiei pentrufragmentare a MDMA

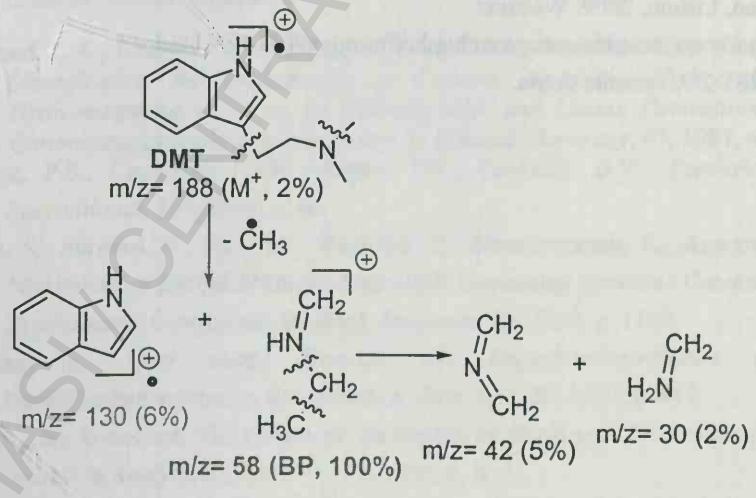


Figura 35. Schema reacţiei de fragmentare a DMT

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Acknowledgment: Autorul I Mangalagiu mulţumeşte pentru finanţarea obţinută în cadrul proiectului POSDRU/86/1.2/S/62307, cu titlul *Promovarea cercetării ştiinţifice din domeniul criminalisticii în activitatea judiciară.*

Bibliografie

UNODC, *World Drug Report 2007*. Website:
http://www.unodc.org/pdf/research/wdr07/WDR_2007.pdf.

World Drug Report 2007, United Nations, Office of Drugs and Crime, 2007. Website:
http://www.unodc.org/unodc/index.html.

Drugs of Abuse, Regional Laboratory for Toxicology. Website:
http://www.toxlab.co.uk/dasguide.htm#OPIATES.

Drugs of Abuse, Regional Laboratory for Toxicology. Website:
http://www.toxlab.co.uk/dasguide.htm#CANNABIS.

Understanding the "Spice" Phenomenon, European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, Lisbon, 2009. Website:
http://www.emcdda.europa.eu/html.cfm/index90917EN.html.

C. Steup, *Untersuchung des Handelsproduktes "Spice"*, Note from THC Pharm GmbH. Website:
http://usualredant.de/drogen/download/analyse-thc-pharmspice-jwh-018.pdf.

Synthetic Cannabinoids and "Spice", European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, Lisbon, 2009. Website:
http://www.emcdda.europa.eu/html.cfm/index90414EN.html.

Baza NIST 2.0, varianta demo.

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Index alfabetic, cărţi şi manuale de referinţă

Drummer, O.H., *The Forensic Pharmacology of Drugs of Abuse*, Oxford University Press, New York, 2001.

Kitson, F.G., Larsen, B.S., McEwan, C.N., *Gas Chromatography an Mass Spectrometry – A Practical Guide*, Academic Press, San Diego, 1996.

Liu, R., Gadzala, D.E., *Handbook of Drug Analysis*, CRC PRESS, Washington, DC, 1997.

Mangalagiu, I.I., *Alcaloizi morfinici şi analogi de sinteză*, Editura Dosoftei, Iaşi, 2000.

Mangalagiu, I.I., Danac, R., Moldoveanu, C., Zbancioc, G., *Chimie şi toxicologie judiciară. Separatologie judiciară*, Editura „AIT-SRL Laboratory", Bucureşti, 2011 (ISBN: 978-606-8363-09-7x2).

Maurer, H.H., Pfleger, K., Weber, A.A., *Mass Spectral and GC Data of Drugs, Poisons, Pesticides, Pollutants and Their Metabolites*, Wiley-VCH, Weinheim, 2007.

McLafferty, F.W., Turecek, F., *Interpretation of Mass Spectra*, 4th edition, University Science Books, Sausalito, California, 1993.

Index alfabetic, lucrări ştiinţifice

Broussard, L.A., Presley, L.C., Pittman, T., Clouette, R., Wimbish, G.H., *Simultaneous Identification and Quantitation of Codeine, Morphine, Hydrocodone, and Hydromorphone in Urine as Trimethylsilyl and Oxime Derivatives by Gas Chromatography-mass Spectrometry*, în *Clinical Chemistry*, 43, 1997, p. 1029.

Cardona, P.S., Chaturvedi, A.K., Soper, J.W., Canfield, D.V., *Forensic Science International*, 157, 2006, p. 46.

Dresen, S., Ferreiro, N., Putz, M., Westphal, F., Zimmermannb, R., Auwartera, V.J., *Monitoring of Herbal Mixtures Potentially Containing Synthetic Cannabinoids as Psychoactive Compounds*, în *Mass. Spectrom*, 45, 2010, p. 1186.

Edeleanu, L., *Über einige Derivate der Phenylmethacrylsäure und der Phenylisobuttersäure*, în *Ber. Deutsch Chem Ges*, 20, 1887, p. 616.

Felinger, A., Guiochon, G., *Computer-simulation in Nonlinear Chromathography*, în *Trends in Analytical Chemistry*, 14, 1995, p. 6.

Huestis, M.A., Darwin, W., Shimomura, E. *et al.*, *Cocaine and Its Metabolites Urinary Excretion after Controlled Smoke Administration*, în *Anal Toxicol.*, 31, 2007, p. 462.

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Jufer, R.A., Wstadik, A., Walsh, S.L., Levine, B.S., Cone, E.J., *Elimination of Cocaine and Metabolites in Plasma, Saliva, and Urine Following Repeated Oral Administration to Human Volunteers*, în *J. Anal. Toxicol.*, 24, 2000, p. 467.

Klette, K.L., Anderson, C.J., Poch, G.K., Nimrod, A.C., ElSohly, M.A., *Metabolism of Lysergic Acid Diethylamide (LSD) to Oxo-3-hydroxy LSD (O-H-LSD)*, în *J. Anal. Toxicol.*, 24, 2000, p. 550.

Lee, M.S., Kerns, E.H., *LC/MS Applications in Drug Development*, în *Mass Spectrom. Rev.*, 18, 1999, p. 187.

Meadway, C., George, S., Braithwaite, R., *Interpretation of GC-MS Opiate Results in the Presence of Pholcodine*, în *Forensic Science International*, 127, 2002, p. 131-135.

Nourse, B.D., Cooks, R.G., *Aspects of Recent Developments in Ion-trap Mass Spectrometry*, în *Anal. Chem. Acta*, 228, 1990, p. 1.

Overton, E.B., Carney, K.R., *New Horizons in Gas Chromatography: Field Applications of Microminiaturized Gas Chromatographic Techniques*, în *Trends in Analytical Chemistry*, 13, 1994, p. 258.

Paul, B.D., Lalani, S., Bosy, T., Jacobs, A.J., Huestis, M.A., *Concentration Profiles of Cocaine, Pyrolytic Methylecgonidine and Thirteen Metabolites in Blood and Urine: Determination by Gas Chromatography-mass Spectrometry*, în *Biomedical Chromatography*, 19, 2005, p. 677.

Postigo, C., de Ada, M.J.L., Barcelo, D., *Analysis of Drugs of Abuse and Their Human Metabolites in Water by LC–MS2: A Non-intrusive Tool for Drug Abuse Estimation at the Community Level*, în *Trends in Analytical Chemistry*, 27, 2008, p. 1053-1069.

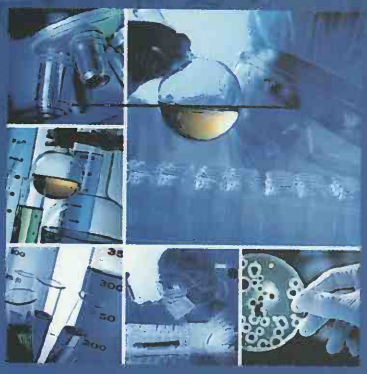
Sobolevsky, T., Prasolov, I., Rodchenkov, G., *Detection of JWH-0180 Metabolites in Smoking Mixture Post-administration Urine*, în *Forensic Science International*, 200, 2010, p. 141.

Tracqui, A., Kintz, P., Mangin, P., *Hair Analysis: A Worthless Tool for Therapeutic Compliance Monitoring*, în *Forensic Science International*, 70 (1-3), 1995, p. 183.

Zbancioc, Gh., Moldoveanu, C., Grădinaru, R., Drochioiu, G., Olteanu, G., Mangalagiu, I.I., *The Metabolism of Drugs/Toxics in the Body. Case Study: BZP*, în *International Journal of Criminal Investigation*, 1, 2011, p. 17.

Wan Raihana, W.A., Gan, S.H., Tan, S.C., *Stereoselective Method Development and Validation for Determination of Concentrations of Amphetamine-type Stimulants and Metabolites in Human Urine Using a Simultaneous Extraction-chiral Derivatization Approach*, în *Journal of Chromatography*, B 879, 2011, p. 8.

BCU IASI - CENTRUL UNIVERSITAR LIBRARY



Acest volum reprezintă o parte din rezultatele cercetărilor efectuate în cadrul proiectului de parteneriat Biometac, Contract 32-173/2008, cu titlul *Membrane microbiologice şi polimeri sintetici biocompatibili cu potenţiale aplicaţii la îndepărtarea metalelor grele şi radioactive din mediu.*
De asemenea, capitolul *Toxicologie medico-legală* şi cel destinat *canabinoidelor* s-au bazat pe experienţa acumulată în cadrul proiectului POSDRU/86/1.2/S/62307, cu titlul *Promovarea cercetării ştiinţifice din domeniul criminalisticii în activitatea judiciară.*

Toxicologia a devenit o veritabilă ştiinţă cu largi implicaţii în viaţa cotidiană. Această disciplină permite o aplicaţie profundă a chimiei şi disciplinelor conexe în protecţia mediului, consumatorului, dar şi în depistarea infracţiunilor care de multe ori pot conduce la deces. De aceea, nu numai studenţii interesaţi de cunoaşterea ştiinţifică a lumii, ci şi publicul larg va găsi în această carte idei şi noţiuni de importanţă teoretică, dar şi practică. În plus, în această carte cititorul va regăsi aspecte legate de toxicocinetică, toxicodinamie, droguri, antitoduri etc. Informaţiile prezentate aici au fost actualizate prin consultarea amănunţită a literaturii ştiinţifice recente. Lucrarea vizează pe lângă aspectele teoretice şi clarificarea unor probleme legate de aplicaţiile practice ale acestor cunoştinţe în viaţa cotidiană. Autorii au speranţa că aceste informaţii vor atrage mai mult studenţii de licenţă sau master la rezolvarea unor provocări ale acestui domeniu fascinant.

9 789737 038883
www.editura.uaic.ro

EDITURA UNIVERSITĂŢII „ALEXANDRU IOAN CUZA" IAŞI

BCU IAŞI UNIVERSITY LIBRARY